

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

以氣舉式生物反應器處理光電業含二甲基亞(DMSO)廢水之 可行性評估(第3年) 研究成果報告(完整版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 97-2221-E-216-004-MY3
執行期間：99年08月01日至100年07月31日
執行單位：中華大學土木工程學系

計畫主持人：黃思蕓
共同主持人：張慧玫
計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理人員：王復暉
碩士班研究生-兼任助理人員：劉傑璋
博士班研究生-兼任助理人員：何欣怡

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

公開資訊：本計畫可公開查詢

中華民國 100 年 11 月 01 日

中文摘要：本研究由大到小思考共為三階段利用好氧生物處理方式去除廢水中 DMSO (dimethyl sulfoxide, 二甲基亞砜) 化合物之可行性研究。利用先前學者之活性汙泥能無臭且有效率降解廢水中 DMSO 濃度，進而發展出一套高效率 DMSO 分解系統，可控制實驗所有參數進行探討。但 DMSO 具高極性、高沸點且為一很好的溶劑之特性，被廣泛的使用在各種工業中。因為 DMSO 具有很高的滲透壓，且對生物具有毒性，隨著 DMSO 的大量使用，使得廢水中含有殘留的 DMSO，若不加以處理 DMSO 又會被厭氧分解還原成具有惡臭的物質—二甲基硫(Dimethyl Sulfide, DMS)，其含量在低濃度時即有明顯臭味產生，極容易超過臭味標準。因此，第一階段為了提供足夠的氧氣本研究使用氣舉式反應器進行活性汙泥生物處理 DMSO 廢水。其中，在氣舉式反應器的重覆批次試驗中，懸浮活性汙泥最快可在 10 小時內將初始濃度約 850 mg/L 的 DMSO 去除達 99% 以上；固定化活性汙泥則在 DMSO 負荷量增加到 1200 mg/L 時依然能於 45 小時內不受負荷增加影響，穩定的將 DMSO 降解完成，顯示出具有足夠的系統穩定性。其中，為了解決生物處理程序中會有降解速率逐漸受到產物或 DMSO 高濃度的影響，實驗結果顯示活性汙泥於氣舉式反應器進行生物降解 DMSO 時，添加 50mg/L 的碳源對於高濃度 DMSO 之代謝有很大的幫助，且活性汙泥馴養的程序對往後實作具影響性。

再者，第二階段結合分子生物技術鑑定此氣舉式活性汙泥之菌相，了解此活性汙泥中最優勢之菌群和篩選出有效降解 DMSO 之菌株。研究使用之剛果紅指示劑與文獻中引朵測試做為比對，比對結果發現剛果紅指示劑篩選較優於引朵測試篩選，其中剛果紅指示劑測試最佳濃度為 15mM。若使用引朵測試則為最終選擇以 500mgL⁻¹ DMSO 額外添加 50mg 引朵藥品。一般生物處理中微生物的菌相具多樣性，包含有硝化菌、脫硝菌、蓄磷菌等。本研究利用生物處理中高效率分解之活性汙泥進行分子生物技術分析菌群。研究針對不同汙泥菌相做進一步研究，分別為動態與靜態之汙泥狀態，研究結果發現氣舉式反應器中活性汙泥，菌相單純，且以降解苯酚類之菌群為主，實驗可有效的降解 DMSO 污染物且無臭味問題產生。實驗發現在活性汙泥進行降解時，誘導出胞外單氧化酶對於 DMSO 降解為重要關鍵，且此酶受到溫度、保存和 DMSO 負荷量的影響。最後第三階段則藉由氣舉式反應器中活性汙泥降解廢水中 DMSO 並找尋出誘導的有效方式，結果顯示培養基為一大關鍵。

英文摘要：Our previous research goal is to develop a feasible biological treatment technology to effectively treat the DMSO into oxidative pathway instead of going to the DMS pathway. First of all, the research results

from the immobilization technology, the repeated batch process and the effect of sucrose addition. The best dose of sucrose is 0-50 mg L⁻¹ that helps bacteria to tolerate the toxicity of DMSO. In the performance of airlift bioreactor, the PVA-immobilized cell beads can degrade the 1,200-mg L⁻¹ DMSO within 45 hr, in comparison to the 10 hr for the free cell system in decomposition of 850-mg/L DMSO. In this year, we focused on the microbial screening of biological sludge capable of degrading dimethyl sulfoxide (DMSO) in airlift bioreactor were analyzed by using a polymerase chain reaction (PCR)-cloning method. The bacteria of the different sludge type were found to be *Serratia liquefaciens*, *Brevibacillus brevis*, *Ochrobacterum* sp., *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. and *Pseudomonas fluorescens* which were previously found as denitrifying bacteria, polyphosphate-accumulating bacteria and phenol-utilizing bacteria. In addition, the newly isolated *Pseudomonas* sp. might be the most predominant DMSO-degrading microorganism existing in our airlift bioreactor. Secondly, the results of this study indicate that low concentration of DMSO (50 mg/L) will not have any effect to activated sludge if it was cultured without LB medium enriched culture. It can be a long term continuous operation. When culturing with 500 mg/L of DMSO, the repeated batch culture of activated sludge show gradually reduce the removing ability. Furthermore, if the activated sludge was treated by high concentrations of DMSO within a short time, it will produce toxicity and lose the ability of DMSO degradation. By repeating batch with the condition of LB medium enriched culture, the activated sludge can completely degrade 500 mg/L DMSO within 120 hours. Our results show that activated sludge can stably degrade high concentration of DMSO in a prolonged operation by LB medium enriched culture conditions.

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

成果報告
 期中進度報告

以氣舉式生物反應器處理光電業含二甲基亞(DMSO)廢水之
可行性評估

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫
計畫編號：NSC 97-2221-E-216-004-MY3
執行期間：2010年8月1日至2011年7月31日

執行機構及系所：中華大學土木與工程資訊學系

計畫主持人：黃思蕁
共同主持人：張慧玫
計畫參與人員：何欣怡、王復暉、劉傑璋

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本計畫除繳交成果報告外，另須繳交以下出國心得報告：

- 赴國外出差或研習心得報告
 赴大陸地區出差或研習心得報告
 出席國際學術會議心得報告
 國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

中華民國 一 百 年 十 月 三 十 一 日

中英文摘要

(一)、計畫中文摘要

本研究由大到小思考共為三階段利用好氧生物處理方式去除廢水中 DMSO (dimethyl sulfoxide, 二甲基亞砜) 化合物之可行性研究。利用先前學者之活性汙泥能無臭且有效率降解廢水中 DMSO 濃度，進而發展出一套高效率 DMSO 分解系統，可控制實驗所有參數進行探討。但 DMSO 具高極性、高沸點且為一很好的溶劑之特性，被廣泛的使用在各種工業中。因為 DMSO 具有很高的滲透壓，且對生物具有毒性，隨著 DMSO 的大量使用，使得廢水中含有殘留的 DMSO，若不加以處理 DMSO 又會被厭氧分解還原成具有惡臭的物質—二甲基硫(Dimethyl Sulfide, DMS)，其含量在低濃度時即有明顯臭味產生，極容易超過臭味標準。因此，第一階段為了提供足夠的氧氣本研究使用氣舉式反應器進行活性汙泥生物處理 DMSO 廢水。。其中，在氣舉式反應器的重覆批次試驗中，懸浮活性汙泥最快可在 10 小時內將初始濃度約 850 mg/L 的 DMSO 去除達 99% 以上；固定化活性汙泥則在 DMSO 負荷量增加到 1200 mg/L 時依然能於 45 小時內不受負荷增加影響，穩定的將 DMSO 降解完成，顯示出具有足夠的系統穩定性。其中，為了解決生物處理程序中會有降解速率逐漸受到產物或 DMSO 高濃度的影響，實驗結果顯示活性汙泥於氣舉式反應器進行生物降解 DMSO 時，添加 50mg/L 的碳源對於高濃度 DMSO 之代謝有很大的幫助，且活性汙泥馴養的程序對往後實作具影響性。

再者，第二階段結合分子生物技術鑑定此氣舉式活性汙泥之菌相，了解此活性汙泥中最優勢之菌群和篩選出有效降解 DMSO 之菌株。研究使用之剛果紅指示劑與文獻中引朵測試做為比對，比對結果發現剛果紅指示劑篩選較優於引朵測試篩選，其中剛果紅指示劑測試最佳濃度為 15mM。若使用引朵測試則為最終選擇以 500mgL⁻¹ DMSO 額外添加 50mg 引朵藥品。一般生物處理中微生物的菌相具多樣性，包含有硝化菌、脫硝菌、蓄磷菌等。本研究利用生物處理中高效率分解之活性汙泥進行分子生物技術分析菌群。研究針對不同汙泥菌相做進一步研究，分別為動態與靜態之汙泥狀態，研究結果發現氣舉式反應器中活性汙泥，菌相單純，且以降解苯酚類之菌群為主，實驗可有效的降解 DMSO 汙染物且無臭味問題產生。實驗發現在活性汙泥進行降解時，誘導出胞外單氧氧化酵素對於 DMSO 降解為重要關鍵，且此酵素受到溫度、保存和 DMSO 負荷量的影響。最後第三階段則藉由氣舉式反應器中活性汙泥降解廢水中 DMSO 並找尋出誘導的有效方式，結果顯示培養基為一大關鍵。

關鍵詞：單氧氧化酵素、DMSO (dimethyl sulfoxide)、廢水處理、生物分解、固定化技術、氣舉式反應器、分子生物技術

(二)、計畫英文摘要

Our previous research goal is to develop a feasible biological treatment technology to effectively treat the DMSO into oxidative pathway instead of going to the DMS pathway. First of all, the research results from the immobilization technology, the repeated batch process and the effect of sucrose addition. The best dose of sucrose is 0-50 mg L⁻¹ that helps bacteria to tolerate the toxicity of DMSO. In the performance of airlift bioreactor, the PVA-immobilized cell beads can degrade the 1,200-mg L⁻¹ DMSO within 45 hr, in comparison to the 10 hr for the free cell system in decomposition of 850-mg/L DMSO. In this year, we focused on the microbial screening of biological sludge capable of degrading dimethyl sulfoxide (DMSO) in airlift bioreactor were analyzed by using a polymerase chain reaction (PCR)-cloning method. The bacteria of the different sludge type were found to be *Serratia liquefaciens*, *Brevibacillus brevis*, *Ochrobacterum* sp., *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. and *Pseudomonas fluorescens* which were previously found as denitrifying bacteria, polyphosphate-accumulating bacteria and phenol-utilizing bacteria. In addition, the newly isolated *Pseudomonas* sp. might be the most predominant DMSO-degrading microorganism existing in our airlift bioreactor. Secondly, the results of this study indicate that low concentration of DMSO (50 mg/L) will not have any effect to activated sludge if it was cultured without LB medium enriched culture. It can be a long term continuous operation. When culturing with 500 mg/L of DMSO, the repeated batch culture of activated sludge show gradually reduce the removing ability. Furthermore, if the activated sludge was treated by high concentrations of DMSO within a short time, it will produce toxicity and lose the ability of DMSO degradation. By repeating batch with the condition of LB medium enriched culture, the activated sludge can completely degrade 500 mg/L DMSO within 120 hours. Our results show that activated sludge can stably degrade high concentration of DMSO in a prolonged operation by LB medium enriched culture conditions.

Keywords: Monooxygenase, DMSO (dimethyl sulfoxide), wastewater treatment, biodegradation, immobilization technology, airlift bioreactor, molecular biotechnology.

致謝

本研究得以國科會三年期支持生物處理於氣舉式反應器去除DMSO廢水可行性探討，計畫編號為NSC 97-2221-E-216-004-MY3，在此獻上誠摯的感謝。本研究成果因完整性和應用層面備受矚目在兩篇國際研討會大放異彩，分別為 2009 International Conference on Chemical, Biological & Environmental Engineering, CBEE in Singapore 和 III international conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology, BioMicroWorld 2009 in Lisbon，並各自收錄在 Proceedings of the 2009 international conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering, C039 與 BioMicroWorld2009-Book-of-Abstracts, Page87。研究更以 Degradation of dimethyl-sulfoxide-containing wastewater using airlift bioreactor by polyvinyl-alcohol-immobilized cell beads 這篇被收錄在國際期刊 *Bioresource Technology* 102 (2011) 5609-5616。最後以 Microbial Diversity of Activated Sludge in Degradation of Dimethyl Sulfoxide in Airlift Bioreactor 被收錄在 *Chung Hua Journal of Science and Engineering*, Vol.7, No.1, pp.85-96(2009)。

目錄

中英文摘要.....	I
致謝.....	III
目錄.....	IV
第一章緒論.....	1
第二章 文獻回顧.....	3
2.1 DIMETHYL SULFOXIDE (DMSO) 的背景.....	3
2.2 大氣中硫的循環.....	4
2.3 氣舉式反應器.....	7
2.4 微生物固定化方法簡介及其材料.....	8
第三章 研究方法.....	10
第四章 結果與討論.....	16
4.1 DMSO 曝氣逸散背景實驗.....	16
4.2 馴養有無對添加碳源下 DMSO 降解之影響.....	16
4.3 氣舉式活性污泥進行連續稀釋法菌相攝影與微生物鑑定.....	24
4.4 使用分子生物技術進行氣舉式反應器活性污泥之菌群分析.....	25
4.5 不同培養基對於篩菌之影響.....	26
4.6 分解 DMSO 之酵素特性.....	27
第五章 結論與建議.....	31
參考文獻.....	32

第一章 緒論

1.1 前言

在台灣工業上，二甲基硫（Dimethyl Sulfoxide, DMSO）一直是光電產業中最廣泛被使用的溶劑，因為它具有高極性、高吸濕性、高沸點及可燃性的優點，他不只能溶於水也能溶於一些有機溶劑，如乙醇、苯和氯仿等許多有機和無機的物質。在 2001 年，約有 900 噸的 DMSO 進口至日本工業，且廢水處理廠處理濃度達 $2,400 \text{ mgL}^{-1}$ [Glindemann and Witherspoon, 2006]。Lin *et al.* (2005) 證實在一般去光阻製程所產生的廢水中，DMSO 就佔有 63% 甚至更多，另外其餘包含 dimethyl sulfide (DMS) 有 15%、isopropylalcohol (IPA) 有 11% 和 1-methyl-2pyrrolidinone (NMP) 有 2%，還有微量的苯、N, N-dimethyl acetamide 和 acetone 等。但是，DMSO 通常經由還原的路徑，進一步降解產生具有臭味的中間產物，如 dimethyl disulfide (DMDS)、DMS、hydrogen sulfide (H_2S)、carbonyl sulfide 和 methane-thiol (MT) 等有機硫成份 [de Zwart and Kuenen, 1992]。

在大氣硫循環中，每年估計從海洋釋放到大氣中的 DMS 流量會有 50–60% [Welsh, 2000]，這些成分會在對流層形成浮質，並且在雲層中凝結成核，經由漂流的海洋大氣帶至各地 [Charlson *et al.*, 1987; Welsh, 2000]，導致太陽輻射反射與降雨的改變。因此，顯示出 DMS 為改變全球氣候與硫循環的最主要關鍵 [Lovelock *et al.*, 1972; Bates *et al.*, 1987; Charlson *et al.*, 1987; Welsh D.T., 2000]。雖然，生物所釋放的 DMS 是高於工業上所產生 [Zwart de J.M.M. and Kuenen J.G., 1992; Lomans *et al.*, 2002]，但是控制排放並適當處理光電業製程中的 DMSO，避免臭味與人民健康問題產生，如今變成一項重要議題。

目前，常用於處理 DMSO 的物化方法包括 UV 氧化方法 [Muratani *et al.*, 1999]、逆滲透膜處理方法、Fenton 處理法 [Koito *et al.*, 1998] 以及微生物處理方法等。其中 UV 氧化法，逆滲透處理方法，Fenton 等處理方法雖然有較高的處理效率，但這些方法均無法使用單一程序即可將 DMSO 從廢水中完全去除，且使用的設備、化學藥品、污泥處置的高費用往往限制其實際應用性。反觀利用生物處理方法因具有低操作成本及高處理效率的特性，近年來逐漸受到研究學者的重視。因此，利用微生物來分解處理 DMSO 將具有很大發展潛力與競爭力 [Chifuku *et al.*, 1999]。

近年，利用分子生物技術鑑定菌株變成一有用的工具 [Arooj *et al.*, 2007; You *et al.*, 2002; Keyser *et al.*, 2006; Chio *et al.*, 2007]。文獻中有很多的細菌能利用 DMS 與/或 DMSO 作為碳源、能量與/或硫源。包含有嗜甲基生絲微菌株 *Hyphomicrobium sp.* [de Bont *et al.*, 1981; Suylen *et al.*, 1986; Pol *et al.*, 1994] 與化學無機合成菌株 *Thiobacillus sp.* [Smith and Kelly 1988a, 1988b] 皆是利用 DMS 作為碳源與能量。自營菌 *Rhodobacter sulfidophilus* SH1 菌株 [Hanlon *et al.* 1994] 與 *Thiocapsa roseopersicina* M1 菌株 [Visscher and van Gemerden, 1991] 皆利用 DMS 作為電子提供者。而 *Marinobacterium sp.* DMS-S1 [Fuse *et al.* 2000]、*Rhodococcus sp.* SY1 菌株 [Omori *et al.* 1995] 與 *Acinetobacter sp.* 20B [Horinouchi *et al.* 1997] 菌株證實也皆能以 DMS 作為唯一硫源。Murakami-Nitta *et al.* 和 Kino *et al.* 學者篩離並證實出能經由氧化路徑降解 DMSO 之菌株 *Cryptococcus humicolus* WU-2，並無臭味產生 [Murakami-Nitta *et al.*, 2003 和 Kino *et al.*, 2004]。因此篩選出一株無臭味降解的菌株為重要課題，但文獻中關於能有效篩選出 DMSO 或硫源降解的菌株的方式卻很有限，且也無法有效成功利用分子生物技術將氧化酵素基因克隆並鑑定 [Omori *et al.*, 1995]。在國內，至少得知大部份的 LCD 面板廠，包括友達、奇美電、華映（已朝不使用 DMSO 發展）及群創等，廠區內常聞到 DMS 惡臭，或是因為使用 DMSO 間接地造成廢水處理廠周遭的環境有 DMS 的惡臭逸散出來，而遭到民眾檢舉與抗爭；甚至環保署長官也提及常受到立法委員的

關切。而 DMS 的怪味道，不但是濃濃的腐臭味，又對人體健康有不良的影響，理當妥當處理。自從 94 年度本實驗室向國科會申請有關光電產業 DMSO 廢水排放處理研究的計畫後，曾針對國內二家大型的面板廠商進行現勘，發現這些工廠的廢水處理設施，大多操作在系統處理容量的限值附近，甚至有時會超過。加上廢水本身的特性，過度曝氣恐因乳化現象，而產生大量的泡泡造成廠區的污染。這也使得業者不得不調小曝氣量，以致活性污泥槽進流後的第一槽溶氧值常低於 0.5 mg/L；氧化還原電位低於零，介於-50~-100 mV 之間。於是 DMSO 在還原的狀態下，被迫經由還原的途徑，降解成 DMS 再形成 H₂S；這些都是典型的臭味物質。目前雖然華映公司已經決定不再使用 DMSO，但據新竹科管局的說法園區普遍存在 DMSO 轉 DMS 臭味的問題，若能有效解決此臭味問題，對於園區廠商及民眾都是一大貢獻。而半導體業和光電產業都是國內兩兆雙星的產業之一，而 DMSO 是他們過去曾評估非常經濟可行的去污劑及光阻撥除劑，目前也已花費數億元購置 DMSO 回收設備。本研究若能如期發展成功其效益一定十分可觀，不但讓該產業的大廠不會浪費掉原先的投資，可以繼續使用既有的回收設備，小廠則可以不再受到臭味引起的民眾抗議所困擾，而且科管局也不用再費心。不過，很可惜本計畫被核可的時間有點太晚，目前國內的友達和華映 LCD 面板廠，因為不耐民眾長久的抗爭干擾，已經不再使用 DMSO，而寧可使用其他代用品，並重新對產品的良率進行測試。當然其所費不貲，若再加上廢除回收設備所損耗的成本，其金額的確相當可觀。

1.2 研究目的

根據本實驗室過去 94 年度以適當來源的活性污泥處理 100-1,000 mg-DMSO/L 的研究中發現，已經改變的菌群結構，單靠大量曝氣是無法恢復的。可見，解決 DMS 惡臭的問題，必須一開始就得從搜尋產生 DMSO₂ 的菌相著手，進而再尋找適合的擔體使其不會流失，最後才進行生物反應器的模擬與設計等相關研究。先前學者研究利用固定化活性污泥於氣舉式反應器處理較難處理之光電業廢水中殘餘的較低濃度 DMSO (10~1000 mg/L)，並已發展一套高效率生物分解 DMSO 處理機制。第一年計畫目的為發展一有效篩選 DMSO 利用菌的方式，並結合分子生物技術鑑定此氣舉式活性污泥之菌相，了解此活性污泥中最優勢之菌群和篩選出有效降解 DMSO 之菌株，進行無臭味降解。由下魚骨圖可知，虛線框線為完成的階段分別為：菌種分析、菌種培養、分析技術建立項目。下年度將進一步將有效菌株進行重複搖瓶批次實驗，並求取發酵槽 DMSO 氧化之動力參數與固定化顆粒的開發。

第二章 文獻回顧

2.1 Dimethyl sulfoxide (DMSO) 的背景

2.1.1 基本特性

二甲基亞砜(Dimethyl Sulfoxide, DMSO)是一種無色有機溶劑，對有機物及無機物均具有強大的溶解性。它被廣泛的使用在電子加工、聚合物、染色及薄膜等方面上。根據危害物質危害數據資訊資料庫所述，二甲基亞砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)，分子式為 $(CH_3)_2SO$ ，在常溫為無色透明液體，具有高極性、高吸濕性、高沸點及可燃性，熱穩定性也佳，不但能溶於水，也能溶於一些有機物溶劑，如乙醇、苯和氯仿等。

2.1.2 DMSO應用

其在產業上應用的相關介紹如下表 1：

表 1 為 DMSO 應用於產業領域之彙整

產業領域	相關介紹	來源
電子工業	DMSO 在電子工業作為光阻剝離劑、法拉級超大容量電容器。另外在電子工業中，DMSO 在太陽能供電系統、電腦和機器人的資訊保護電源和記憶元件等方面也有應用。	[陳秀仁 等, 2000；二甲基亞砜市場預測, 2001]
石油加工	DMSO 在芳烴抽提中作為萃取溶劑，其優點是：對芳烴的選擇性高，萃取溫度低，無腐蝕，萃取工藝簡單，適合萃取含烯量高的油料。	[陳秀仁 等, 2000]
合成纖維	DMSO 可作為丙烯腈與其他單體共聚、聚氨酯的合成與抽絲、聚醯亞胺、聚風樹脂合成、聚乙烯醇的紡絲、酯化、醚化和縮醛化等的溶劑。	[盛為友, 2000]
農藥	DMSO 是農藥、農肥的溶劑、滲透劑和增效劑。	[中國大陸二甲基亞砜的生產及市場分析, 2001]
有機合成	DMSO 在化學反應中因反應溶劑、反應試劑的雙重作用，對某些在水溶液中不能實現的反應，在 DMSO 中皆能順利地進行，對某些化學反應具有加速、催化作用，提高收率，改變產品性能等優點	[盤錦遠東錦星化工有限公司, 2002]

2.1.2 一般平面液晶顯示器業者常用廢水處理技術

一般含 DMSO 的廢水，可以依其濃度的高低分為兩種。第一種屬於高濃度的(超過 1000 mg / L)廢水，主要來自光阻撥除劑，目前業者大多是利用濃縮技術來加以回收再利用，或是直接送到焚化爐處理。第二種是低濃度的(10~1000 mg / L)廢水，主要來自液晶顯示器與半導體的洗淨製程，由於該廢水的 DMSO 濃度偏低，因此經常增加處理的困難度[Murakami *et al.*, 2002]。截至目前為止，國內有關的電子產業，其製程中所排放廢氣中的 DMS 之含量，以及其生物處理廢水系統對 DMSO 的處理能力等

相關的資料仍相當匱乏，僅得知製程廢水中 DMSO 含量大約為 500~800 mg/L 左右。其中 TFT-LCD 製程也明顯指出，製程的廢水中主要污染物如顯影液、剝離液、清洗液中所含的 DMSO、MEA(單乙醇胺，monoethanol amine)、BDG(butyl diglycol)及 TMAH(氫氧化四甲基銨，tetramethylammonium hydroxide)、IPA(異丙醇，isopropyl alcohol)等，大多為有機氮、硫類物質，大部分光電廠均使用生物處理來去除以上有機物。

2.1.3 DMSO對環境與人體上的影響或傷害

由於 DMSO 使用量日益增多，而且對環境及人體均有不良影響，以目前法規來說，美國環保署允許廢水中的 DMSO 濃度為 0.05 mg/L，或以 TOC 濃度作為 DMSO 之參考濃度時，允許的範圍是 100~200 mg TOC/L [Muratani *et al.*, 1999]。根據 Material Safety Data Sheet (MSDS)指出，短時間吸入 DMSO 容易造成刺痛感、噁心、嘔吐、頭痛及暈眩。長時間的吸入 DMSO 可能會危害人體生命安全。而皮膚接觸 DMSO 則會出現過敏、水泡、熱反應(皮膚沾有水時)、噁心、暈眩、嘔吐。且 DMSO 對眼部具有刺激性，並造成視線模糊。另外，短期的攝取 DMSO 會造成噁心、嘔吐、腹瀉、胃痛、昏睡等症狀。DMSO 代謝所產生的有機硫化物通常也對人體造成不適或呼吸道不舒服的問題，如二甲基硫(Dimethyl Sulfide, DMS)的方面，即使在低濃度也極為容易超過臭味的標準[Leonardos *et al.*, 1969]。在物質安全資料表中指出 DMS 除具有易燃性與反應性外，對人體會嚴重刺激眼睛、呼吸道及皮膚，造成灼傷。長期暴露可能造成肺水腫、損害心臟、肝、胃、甚至致命；DMS，亦為一種致癌物質。

2.2 大氣中硫的循環

2.2.1 硫的來源與循環

每年由人為因素、地球化學、生物處理程序中釋放至大氣中的 DMS 約有總硫源的 75% [Kelly *et al.*, 1991]。下表 2 為經由自然或人為因素釋放硫化物至大氣中的逸散速率。所逸散至大氣的硫源可能影響地球的輻射能與酸雨問題[Charlson *et al.*, 1982; Charlson *et al.*, 1987]。Hatton *et al.*學者發現海洋中的 DMSO 的濃度明顯高於 DMS 的現象，很顯然海水中 DMSO 會經由還原路徑成 DMS。Andreae *et al.*學者提出 DMSO 濃度在海水為 220 nM，在淡水為 1-70 nM [Andreae *et al.*, 1972]。一般認為 DMS 形成的其中一個機制是 DMSO 的還原 [Lomans *et al.*, 2002]；DMSO 也在自然環境的地球硫循環中，扮演著 DMS 光氧化作用的中間產物 [Bentley *et al.*, 1972]。在大氣中硫循環由硫逸散至大氣中，最終地去除藉由乾或濕沉澱型態到地球表面上。一般來說，大氣環境中的硫循環，由複雜的循環中，分離兩個獨立環境：分別為缺乏氧氣的缺氧區，和大氣存在氧氣的好氧區。在複雜的分界中包含大自然物理與微生物的代謝。

表 2 為經由自然或人為因素釋放至大氣中的逸散速率[Kelly and Smith,1991]

source	Sulfur compound release (Tg year ⁻¹)						
	SO ₂	H ₂ S	DMS	DMDS	CS ₂	COS	total
Oceanic		0-15	38-40	0-1	0.3	0.4	38.7-56.7
Salt marsh		0.8-0.9	0.58	0.13	0.07	0.12	1.7-1.8
Swamps		11.7	0.84	0.2	2.8	1.85	17.4
Soil and plants		3-14	0.2-0.4	1	0.6-1.5	0.2-1.0	5.0-48.5
Burning of biomass	7	0-1		0-1		0.11	7.1-9.1
Volcanoes/fumeroles	8	1		0-0.02	0.01	0.01	9.0
Total	1	16.5-70	39.6-45.4	1.3-	3.8-	2.7-	78.9-142.6

	5	.6		3.4	4.7	3.5	
--	---	----	--	-----	-----	-----	--

2.2.2 常見DMSO/DMS 降解菌株

(1) 循 DMS 還原途徑的菌株

Zinder and Brock [1978], and De Bont *et al.* [1981] have reported that strain DL-1 and *Hyphomicrobium* sp. S, respectively, degraded DMSO to sulfate ion through many malodorous compounds, e.g. DMS, MT and hydrogen sulfide. Other microorganisms showing the similar DMSO-degrading pathway included *Rhodobacter capsulatus* [McEwan *et al.*, 1991], *Escherichia coli* [Bilous and Weiner, 1985; Weiner *et al.*, 1992]. *Halobacterium halbium* R1, *Halobacterium halobium* NRC-1, *Halobacterium salinarium* str. 5, *Haloferax volcanii*, *Haloferax mediterranei*, *Haloarcula marismortui*, *Haloarcula vallismortis* could reduce DMSO [Oren and Trupper, 1990]. *Halobacterium*, *Desulfobacterium niacini*, *Desulfovibrio desulfuricans* PA2805, *Desulfovibrio vulgaris*, *Desulfovibrio halophilus*, *Desulfovibrio* sp. DSM 3099 were mostly found in marine [Jonkers *et al.*, 1996]. However, *Hyphomicrobium* strain EG grew with reduction of DMSO using DMSO reductase but with oxygen as electron acceptor [Suylen and Kuenen, 1986]. *Hyphomicrobium* strain S1, *Arthrobacter* strain TGA, *Arthrobacter* strain ALL could degrade DMSO, dimethyl sulfone (DMSO₂) and DMS [Borodina *et al.*, 2000].

(2) 循 DMSO₂ 氧化途徑的菌株

Recently, Murakami-Nitta *et al.* [2002] found several kinds of microorganisms that were capable to decompose sulfuric organic compounds through two their proposed degrading pathways. *Hyphomicrobium denitrifikans* WU-K217 that behaved similar to *Hyphomicrobium* sp. S [De Bont *et al.*, 1981] was capable to degrade DMSO to sulfate through malodorous DMS, MT and hydrogen sulfide [Muratani, 1999], and the methyl moiety was assimilated via serine pathway. However, *C. humicolus* WU-2 and *Hyphomicrobium* sp. WU-OM3 could degrade DMSO and DMSO₂, respectively, to sulfate through a odorless DMSO₂ and methanesulfonic acid (MSA) with a very high efficiency [Murakami-Nitta, 2003ab; Kino *et al.*, 2004]. De Marco *et al.* [2000], from a Portuguese soil sample, also found two strains (*Methylobacterium* strain P1 and *Hyphomicrobium* strain P2) that are strictly aerobic, degrade MSA, and release small quantities of sulfite into the medium.

2.2.3 DMSO 與DMS 的循環及生物分解機制

Dimethylsulfide (DMS) 主要是生物活動所產生的硫磺氣體，主要是來自海洋。每年大約五千萬噸的 DMS 散發至大氣中 [Kelly and Murrell, 1996; Malin, 1996]。DMS 形成的其中一個機制是 DMSO 的還原 [Lomans *et al.*, 2002]。DMSO 也在自然環境的地球硫循環中，扮演著 DMS 光氧化作用的中間產物 [Bentley *et al.*, 1972]。普遍認為 DMSO 是海洋對流層氣溶膠 (marine tropospheric aerosol) 以及膠凝核的形成上重要的氣候因數之一 [Charlson *et al.*, 1987]。另外，有文獻指出 DMSO 濃度在海水為 220 nM，在淡水為 1-70 nM [Andreae, 1972]。

Zinder and Brock [1978] 推論菌株 DL-1 利用乳酸作為碳源，將 DMSO 還原成 DMS 而 De Bont *et al.* [1981] 認為他們所發現的菌株 *Hyphomicrobium* S 依據式(2) DMS、MS 的途徑，逐步脫除 HCHO 官能機，將 DMSO 分解成硫酸根。且 Muratani [1999] 提出 DMSO 的分解還原成 DMS 途徑，與 De Bont *et al.* [1981] 雷同。其中，硫通過甲基硫化物與甲硫醇等途徑最後氧化成為硫酸。另外碳與水通過甲醛，蟻酸等途徑氧化成二氧化碳及水。另外，Koito *et al.* [1998] 指出，DMSO 先氧化 DMSO₂ 再被轉化成

MSA (CH₃SO₂OH) 進而轉化成 H₂SO₄，途徑中將不會產生如 H₂S 或是 DMS 等臭味化合物。Koito et al. [1998] 整理出數種不同處理方法的 DMSO 反應途徑。自 DMSO 的生物分解研究顯示，有許多微生物能夠利用 DMSO 作為碳源與能源 [Suylen and Kuenen, 1986]。有研究提出一條 DMSO 分解途徑如報導所述 [De Bont et al., 1981]。DMSO 還原成 DMS 不僅透過微生物途徑，也會透過動物與植物進行還原 [Zinder and Brock, 1978]，DMS 的分解將產生 2 mol 的甲醛以及 1 mol 的硫酸鹽。DMS、Methylmercaptan 以及 Hydrogen sulfide 等中間產物會導致惡臭氣味的問題產生，其中特別是 DMS 對人體具有毒性。而甲醛轉化成 CO₂ 或是為細胞所用，且硫氧化成為硫酸根。

事實上，完整的 DMSO 分解程序中必須包含好氧與厭氧生物分解程序，早期 DMSO 還原成 DMS 是必須的起始還原步驟是一個誤解。惡臭氣味的產生與厭氧處理系統是具有絕對的關聯性，該方法處理含有 DMSO 廢水將不被考慮為實用的方法。然而，一些調查報告指出有些好氧微生物能夠代謝其他碳源，並同時還原 DMSO [Zinder and Brock, 1978; Alef and Kleiner, 1989; Sklorz and Binert, 1994; Griebler, 1997]。Zinder and Brock [1978] 推測好氧微生物以 DMSO 為電子接受者來還原 DMSO 時無法提供任何生理上的益處。Sklorz and Binert [1994] 也認為 DMSO 還原法可以用以測試污泥活性。

由上述可以得知 DMS 雖然是 DMSO 分解的途徑之一，但是利用生物處理法處理 DMSO 並且不會造成臭味化合物的途徑仍然是存在的。而如何利用生物處理程序通過不會產生如 DMS、H₂S 等臭味化合物進而處理廢水中的 DMSO 則成為當前的研究目標。

2.2.4 影響DMSO/DMS 分解菌株之環境因子

環境因子的改變會造成微生物族群的變化或是生理的改變，其影響條件包括溫度、氧氣、酸鹼度、滲透壓、光線、營養成份 (TKN、NO₃-N、NO₂-N)、進流負荷 (TOC、COD)、水力負荷 (HRT) 等種種因素。例如 Yang and Myint [2003] 指出在穩定狀態下，添加蔗糖可以使 DMSO 去除率由原本的 80~84 % 提升至 92~95 %。而這個添加蔗糖作為附加碳源程序而提升對毒性有機物 (DMSO) 分解的能力與所謂的共代謝的程序相當類似 [Ritterman and McCarty, 2001] TOC 去除效率與 HRT 有關。而且，低濃度的 NO₃-N 對於以回收廢水處理來進一步預備晶圓製造程序中的超純水是相當重要的。目前有數種 *Hyphomicrobium* 菌株被提出能以 DMSO 為單一碳源為生長環境 [Murakami-Nitta et al., 2002; De Bont et al., 1981; Suylen and Kuenen, 1986]。Murakami-Nitta et al. [2003a] 指出在篩選出來的菌株中，WU-2 在 TA-1 中表現出快速的生長並且將 0.64mM 的 DMSO 完全分解。WU-2 似乎是酵母菌，並且利用許多基質如：D-glucose, D-galactose, L-sorbose, D-glucosamine, D-ribose, D-xylose, L-arabinose, L-rhamnose, sucrose 及 maltose 作為單一碳源，但是不會對 D-glucose, D-galactose, maltose, sucrose, lactose 及 raffinose 進行發酵作用。WU-2 被鑑定成 *Cryptococcus humicolus*。

Jonkers et al. [1996] 測試生存在淡水，海洋以及高鹽份環境中各種硫酸鹽還原菌對 DMSO 的還原能力。其中四種海洋菌株 (*Db. Niacini*, *Dv. Desulfuricans* strain PA2805, *Dv. Vulgaris*, *Desulfobrio* sp. DSM 3099) 及一種高鹽分環境菌株 (*Dv. Halophilus*) 具有還原 DMSO 能力。使用 5% 硫酸鹽生長菌的接菌量，這些菌株在五天的馴養中將 20 mM 的 DMSO 還原成 DMS。這些菌株在經過連續三次轉植後仍然保持利用 DMSO 作為電子接受者的能力。在 3 個星期的馴養後沒有其他的菌株具有還原 DMSO 的能力。這些菌株在 15 mM 硫酸鹽與 5 mM DMSO 的培養液中沒有還原 DMSO。DMSO 還原的最大能力為每天 0.5 % 的 DMSO 起始濃度。實驗結果顯示某些來自海洋或是高鹽份地區的硫酸鹽還原菌能夠生長在具有 DMSO 的環境中並有將 DMSO 還原的能力，另外在 *Dv. desulfuricans* strain PA2805 中 DMSO 的還原不會受到鉬酸鹽的抑制。鉬酸鹽會對細胞生長的抑制是因為 ATP 的消耗

[Oremland and Smith, 1998]。在這些條件下，電子自乳酸鹽被傳送至 DMSO 是可能的。

2.2.5 國內外DMSO/DMS處理方法

目前常用於處理 DMSO 的物化方法包括 UV 氧化方法[Muratani *et al.*, 1999]、逆滲透膜處理方法、Fenton 處理法[Koito *et al.*, 1998]以及微生物處理方法等。其中 UV 氧化法，逆滲透處理方法，Fenton 等處理方法雖然有較高的處理效率，但這些方法均無法使用單一程序即可將 DMSO 從廢水中完全去除，且使用的設備、化學藥品、污泥處置的高費用往往限制其實際應用性。目前已發表一些去除含有低濃度 DMSO 的廢水之報告。Murakami *et al.*(2002)的報告中指出，Shigeta 所發展的處理 DMSO 方法包含兩個步驟[Shigeta, Kokai Tokkyo Koho, P2000-263069A, 1999]：透過過氧化物，臭氧將 DMSO 氧化成 DMSO₂ 之後再以活性污泥將 DMSO₂ 生物分解。然而此方法中，pH 的控制及 O₃ 的使用是十分昂貴的，且過氧化物在生物開始分解前必須保持過量的狀態。

目前，生物處理方法因具有低操作成本及高處理效率的特性。近年也有許多學者利用不同生物反應器使用微生物進行 DMSO 降解，如生物濾床[Cho *et al.*,1991]、薄膜反應器[Bo *et al.*, 2002]、氣舉式反應器[Hwang *et al.*,2007]等，都可有效率的去除，由以氣舉式反應器為最佳，10h 可降解 750mgL⁻¹DMSO。由不同 DMSO 處理方法的反應途徑可知，生物處理程序區分為好氧與厭氧處理方式，好氧程序由 DMSO 氧化後產生 DMSO₂，再經由 MSA (methanesulfonic acid)，代謝成硫酸鹽(sulfuric acid)；厭氧程序則由電子提供者的不同優先產生 H₂S、CH₃SH 與 CH₃SCH₃ 等臭味，最終產生硫酸鹽類(sulfuric acid) [Koito *et al.*, 1998]。

2.3 氣舉式反應器

2.3.1 氣舉式反應器簡介

自 1940 年來，對於好氧發酵製程之生物反應器具有良好的氣-液質傳效果。氣舉式反應器於任何製程上皆能提供高的混合與質傳效果、高流體循環速率、混合時間短以及低剪應力(shear)等優點；其氣舉式反應器運用的領域相當廣泛，如有機物的合成、廢水生物處理以及發酵生產(啤酒、醋、檸檬酸與抗生素等)[Hinks *et al.*, 1996、Adinarayana *et al.*, 2004]。

2.3.2 氣舉式反應器之構造與種類

氣舉式反應器主要是由上升區域(riser)、下降區域(downcomer)、氣-液分離區(gas-liquid separator)及基底(base)等四個部份所構成。這四個區域將反應器區分成向上及向下流動兩部份，以產生循環迴路。通常輸入氣體的區域稱為上升區域，在此區域內氣-液向上同向流動，造成較大的氣體滯留量，且為氣-液質傳效果最佳的地方。當流體離開上升區域的頂端，即進入氣-液分離區。然後，藉由上升區域與下降區域之平均密度差或靜壓力差[Shimizu *et al.*, 2001]，而使得流體流入下降區域。當流體到達底端時，隨即通過基底再進入上升區域。因此，在反應器中會產生連續循環的流動現象，其循環及混合效果佳，無機械攪拌，可減少動力輸入外，其剪應力也較小；而剪應力較小，也比較不會對微生物與固定化顆粒造成影響。一般氣舉式反應器的分類，依循環方式主要分為內部循環式以及外部循環式等兩種類型。Znad *et al.* (2006) 利用氣舉式反應器在好氧條件下批次實驗中，以懸浮活性污泥與固定化活性污泥來降解除草劑(S-ethyl dipropylthiocarbamate, EPTC)。在活性污泥濃度為 2,184 ppm、曝氣速率為 3.5 L/min 時，觀察到固定化活性污泥因為可以抵抗除草劑的毒害，所以降解速率高於懸浮活性污泥。

2.3.3 氣舉式反應器在廢水處理上之研究

Loh and Liu [2004] 利用反向式外部循環氣舉式流體化床生物反應器 (External loop inverted fluidized bed airlift bioreactor, EIFBAB) 處理含酚的廢水，實驗結果顯示在 EIFBAB 反應器系統中，可

降解酚的濃度為 $3,000 \text{ mg L}^{-1}$ 。Zhang et al. [2002] 發明一新款的氣舉式生物反應器，即將陶瓷蜂窩狀擔體 (IAL-CHS) 安裝在內循環氣舉式反應器的拖曳管中作為固定化生物細胞之用。從活性污泥中所分離出來的微生物菌株，鑑定為 *Burkholderia pickettii*，利用此菌株以 (quinolone) 當作單一碳源、氮源與能量來源，進行奎林的處理。實驗結果顯示連續操作比批次操作穩定，而且當操作條件 HRT 為 4 小時，奎林的去除能力高於 95%。Zhang et al. [2005] 再利用此 IAL-CHS 固定化微生物 *Candida tropicalis* 菌株來降解廢水中的化學需氧量 (chemical oxygen demand, COD)，連續操作處理廢水有機負荷量可達到 $15 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ 。

Wen et al. [2003] 利用三相循環式氣舉式反應器處理低濃度 COD 廢水。操作在以下條件時：pH 值介於 6.5-7.5、溫度在 $20\text{-}30^\circ\text{C}$ 、C/N 比為 0.95-1、氣相-液相比為 62.5 及水力停留時間 (hydraulic retention time, HRT) 為 2.5 小時，COD 和 $\text{NO}_x\text{-N}$ 的去除效率分別為 93 和 96%，排放口硝酸鹽濃度小於 20 mg L^{-1} ，其 COD 濃度小於 40 mg L^{-1} 。Quan et al. [2004] 利用內循環氣舉式生物反應器降解 2,4-二氯酚 (2,4-dichlorophenol; also 2,4-DCP) 和酚。發現在饋料批式 (fed-batch) 連續操作下，當 2,4-DCP 的負荷率 (loading rate) 保持在 $29.72\text{-}32.23 \text{ mg day}^{-1}$ ，而酚的負荷率從 325.56 逐步增加到 $602.79 \text{ mg day}^{-1}$ 時，酚的去除率仍可以維持在 99.6%，但 2,4-DCP 的去除率卻從 100% 下降至 87.9%。由此可見，酚存在於進料中會抑制生物降解 2,4-DCP，主要碳源從 2,4-DCP 轉變為酚。Znad et al. [2006] 利用氣舉式反應器在好氧條件下批次實驗中，以懸浮活性污泥與固定化活性污泥來降解除草劑 (S-ethyl dipropyl-thiocarbamate, EPTC)。在活性污泥濃度為 2,184 ppm、曝氣速率為 3.5 l min^{-1} 時，觀察到固定化活性污泥因為可以抵抗除草劑的毒害，所以降解速率高於懸浮活性污泥。

2.3.4 氣舉式反應器反應動力現象電腦模擬

氣舉式反應器的模式可以分為二類，軸擴散 (axial dispersion) 模式和串聯槽 (tanks-in-series) 模式。前者以駱呈欣 [2004] 為代表，反應器為柱狀流，由於軸擴散而成二階的邊界層問題，待四個區域的邊界值都相同做為程式收斂的目標。然而，本計畫將以後者為依據。串聯的每一個槽都是完全混合反應器，然後依初始值問題求解。Znad et al. [2004] 在一個 10.5 升內循環氣舉式反應器進行 gluconic acid 醱酵生成葡萄糖之實驗，在此模式中同時考量二種基質 (包括氧) 在暫態下進行半批次操作。同一個實驗室，Sikula et al. [2006] 進行同樣的實驗，在 12 升的反應器中求取動力參數，拿到放大的 40 和 200 升反應器中使用，其模擬的結果皆非常吻合。

2.4 微生物固定化方法簡介及其材料

微生物或酵素固定化技術之應用，早在 80 年代即已普遍應用於生物技術相關產業上。固定化微生物細胞係指將具有活性的微生物細胞固定於擔體材料的表面或內部，使細胞聚集在有限的空間中。固定化方法大致可分為：(1) 自然吸附固定化法 (self-attachment immobilization) 與 (2) 人工固定化法 (artificial immobilization) [Cohen et al., 2001]。

自然吸附固定化法是指在人為提供的適當環境下，微生物細胞自然附著或凝結於擔體表面上或於多孔擔體內部中生長，進而形成生物膜。人工固定化法則包括：共價鍵結法 (covalent bonding)、共價交聯法 (covalent cross linking)、微膠囊包覆法 (micro encapsulation) 及包埋法 (entrapment) 等；其中又以包埋法最為常用。

包埋法固定化材料可分為天然與人工合成高分子物質兩類。天然物質如褐藻膠 (alginate) 與紅藻膠 (κ -carrageenan)，主要由海藻中取得。天然聚合物一般藉由冷卻與/或含不同離子聚合溶液混合接觸作用，以引起凝膠化成固定化聚合物。已有相關研究指出天然聚合物機械強度較脆弱，易破裂，不適合長期操作使用，但擴散性卻較人工合成聚合物好 [Leenen et al., 1996]。到目前為止，已有相關研究利用

許多人工合成物質以包埋微生物，如聚丙烯醯胺(polyacrylamide, PAA)、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)、聚丙二醇(polypropylene glycol, PPG)等。由於天然聚合物之物理穩定性較人工合成聚合物低，因此本研究考慮利用人工合成聚合物-PVA，以包埋微生物作為處理 DMSO 之固定化材料。

Gonzalez *et al.* [2001] 主要利用固定化細胞 *Pseudomonas putida* ATCC17484 生物降解工業廢水酚。研究中以批次與連續方式來求取最大生物降解能力，以及微生物適應基質的情形。在批次操作中，當微生物逐步適應在毒性化合物中，可以降解工業廢水酚濃度達 $1,000 \text{ mg L}^{-1}$ 。而且可以觀察到 *P. putida* 還能夠降解那些存在於廢水中的化合物。在連續操作中，探討在流體化床生物反應器對於酚的有機負荷率和對去除效率的影響，得知酚降解效率可高於 90%，負荷率為 $0.5 \text{ g phenol day}^{-1}$ 。Mordocco *et al.* [1999] 利用固定化細胞 *P. putida* 菌株連續降解酚濃度從 100 到 2.5 mg L^{-1} 。然而，當稀釋速率增加時，增加顆粒數量比例，出口濃度可以維持在 $<10 \text{ mg L}^{-1}$ 。實驗結果發現，固定化細胞系統降解污染物—酚的效果，遠比懸浮細胞系統好。

第三章 研究方法

3.1 實驗材料與設備

3.1.1 菌種來源與培養基

污泥取自於台灣化工產業工廠中的廢水處理單元。定期定量添加 Yang & Myintl 所提出的 DMSO 模擬廢水溶液進行馴養，其成份組成如下表 3 所示 [Yang & Myintl, 2003]。其中，挑選 Kino *et al.* 和 Omori *et al.* (1997) 各自所提出的 TA-1 培養基與 SFMM (Sulfur-Free Mineral Medium) 培養基來進行測試，成分為表 4 和 5。

表 3、為模擬廢水溶液組成

Composition of DMSO degradation medium.		
Component	Quantity	Company
DMSO	280-997mg/L (半導體廢水 600mg/L)	SIGMA-ALDRICH CO.
Sucrose	50 mg/L	SIGMA-ALDRICH CO.
CaCl ₂	1.82 mg/L	SIGMA-ALDRICH CO.
(NH ₄) ₂ SO ₄	120 mg/L	Merck
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.15 mg/L	Merck
MnSO ₄ ·H ₂ O	2.5 mg/L	Merck
MgSO ₄ ·7H ₂ O	25 mg/L	WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES. LTD.
KH ₂ PO ₄	2.72 g/L	聯工製藥
K ₂ HPO ₄	5.225 g/L	聯工製藥
其他使用之藥品均為試藥級或以上等級藥品。		

表 4、為 TA-1 篩選培養基組成

Composition of DMSO screening medium.		
Component	Quantity	Company
DMSO	500mg/L	SIGMA-ALDRICH CO.
Glucose	5 g/L	聯工製藥
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.1 mg/L	SIGMA-ALDRICH CO.
NH ₄ NO ₃	120 mg/L	聯工製藥
NaHPO ₄	0.15 mg/L	聯工製藥
KH ₂ PO ₄	2.5 mg/L	聯工製藥
其他使用之藥品均為試藥級或以上等級藥品。預調配 TA-1 固態培養基時，添加 1.5% 的 bacteriological agar。		

表 5、為 SFMM 化學組成

藥品	g/L	公司
Modified Sulfur-Free Mineral Medium (MSFMM)		
NH ₄ NO ₃ (FW: 80.04)	3.0	UNION CHEMICAL WORKS LTD UNION CHEMICAL WORKS LTD 聯工化學試藥
Na ₂ C ₄ H ₄ O ₄	5	WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES LTD.
Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ · 2H ₂ O (FW:294.10)	5	KANTO CHEMICAL CO.,INC 關東化學株式會社
Na ₂ HPO ₄ (FW: 141.96)	2.2	Riedel-deHaen 友和貿易股份有限公司 UNI-WARD CORP.
CaCl ₂ · 2H ₂ O (FW: 146.98)	0.01	Riedel-deHaen 友和貿易股份有限公司 UNI-WARD CORP.
KH ₂ PO ₄ (FW: 136.09)	0.8	SHIMAKYU'S PURE CHEMICALS 島九藥品株式會社 JAPAN
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.01	USB 季勗企業有限公司
Hutner's vitamin-free mineral base		
MgCl ₂ · 6H ₂ O	16	USB 季勗企業有限公司
CaCl ₂ (FW: 146.98)	3	Riedel-deHaen 友和貿易股份有限公司 UNI-WARD CORP.
FeCl ₃ · 6H ₂ O (FW: 270.30)	0.102	MERCK 台灣默克股份有限公司
Modified metals 44		
CoCl ₂ · 6H ₂ O (FW: 237.93)	0.238	SHIMAKYU'S PURE CHEMICALS 島九藥品株式會社 JAPAN
Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O (FW: 381.37)	0.177	Hayashi Pure Chemical Industries, Ltd (Japan) 林純藥工業株式會社
EDTA C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ Na ₂ · 2H ₂ O(FW: 372.2)	2.5	SIGMA 季勗企業有限公司
ZnCl ₂ (FW: 136.29)	5.17	SHIMAKYU'S PURE CHEMICALS 島九藥品株式會社 JAPAN
FeCl ₃ · 6H ₂ O (FW: 270.30)	4.85	MERCK 台灣默克股份有限公司
CuCl ₂ · 2H ₂ O (FW: 170.48)	0.267	KANTO CHEMICAL CO.,INC 關東化學株式會社
剛果紅指示劑與引朵皆為試藥級，純度 99.5% 以上。		

3.1.2 實驗藥品

二甲基亞砜(Dimethyl Sulfoxide, Dimethyl Sulphoxide)、Glucose 以及 CaCl₂ 購自 SIGMA 公司。(NH₄)₂SO₄、FeCl₃·6H₂O 與 MnSO₄·H₂O 則購自 Merck 公司。KH₂PO₄、K₂HPO₄ 購自工製藥。COD 測定所使用的 A、B 試劑等藥品購自 Merck(Darmstadt, Germany)。BCA 分析試劑購自 PIERCE 公司，PVA 是由長春石化公司提供。其他使用之藥品均為試藥級或以上之等級。

3.1.3 實驗器材與設備

將所使用的儀器名稱、廠牌以及型號列表如下表 6。

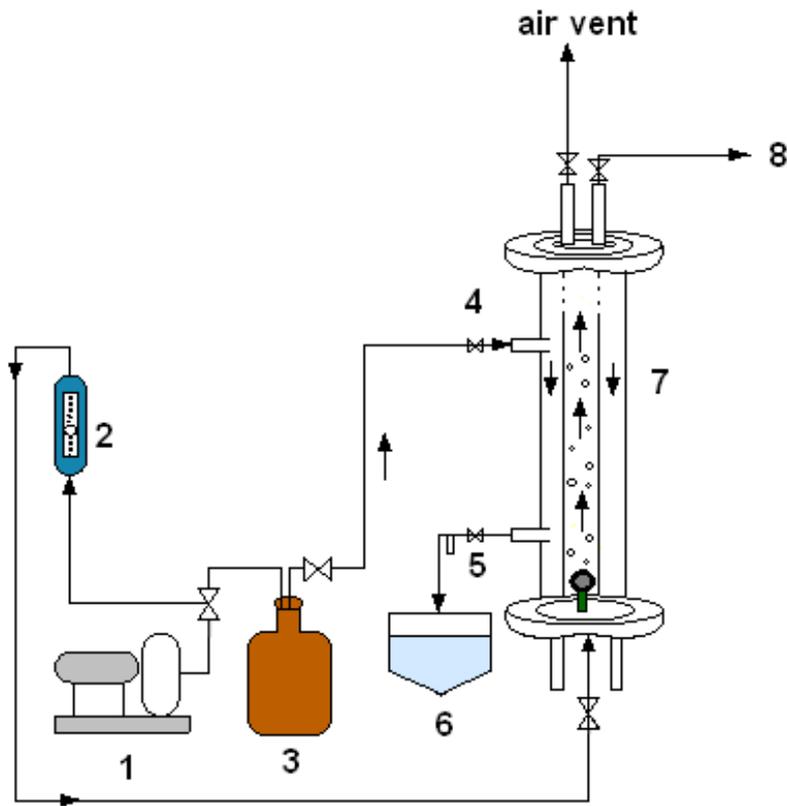
表 6、為實驗使用的儀器

編號	名稱	型號
1	分光光度計 (UV-VIS spectrophotometer)	DR/4000U, HACH, Colorado, USA
2	反射式光度計(reflectometer)	RQflex Plus, Merck, Whitehouse Station, New Jersey
3	離心機 (automatic refrigerated centrifuge)	U-32R, BOECO, Hamburg, Germany
4	迴轉式恆溫震盪培養箱(orbital shaker incubator)	Incubator E700L, DENG YNG, Taipei, Taiwan
5	微電腦酸鹼度計 (microprocessor pH/ORP meter)	SP-2200, SUNTEX, Taipei, Taiwan.
6	手提式溶氧測定儀 (handheld oxygen meter)	Oxi 340i, WTW, Weilheim, Germany
7	氣相層析儀 (Gas-Chromatography) 與 石英毛細層析管(Fused Silica Capillary Column)	GC: 8700, China chromatography, Taipei City; 層析管: DB-5 (30m, 0.53mm, 5µm film thickness), J&W Scientific
8	蠕動幫浦(micro tubing pump)	MP-1000-H, Eyela, Tokyo, Japan
9	HPLC 液相層析管柱	Hypersil ODS (5µL, 250×4.6 mm), England
10	HPLC	Acme 9000, YOUNG LIN INSTRUMENT, Korea
	分析型梯度液體輸送幫浦 SDV50A&SP930D	
	紫外/可視光檢測器 UV730D	
	折射率檢測器 RI750F	
11	Acme 6000 GC	Acme 6000, YOUNG LIN INSTRUMENT, Korea

3.2 反應器裝置及週邊設備

氣舉式反應器裝置為一塔高約 47cm，工作體積(working volume)為 3.2 L 之壓克力製反應器，內徑 11 cm；拖曳管高 33.5 cm，內徑為 5 cm，縱橫比大約為 1：6.6。而空氣由槽體下方進入，利用電磁隔

膜式空氣泵(Hiblow, Sun Mines, Taipei City, Taiwan)經由流量計控制流量，打入反應器中。氣流速率為10L/min。如圖 1 所示。



圖中編號表示為：

(1) diaphragm air pump; (2) rotameter; (3) DMSO reservoir; (4) feeding port; (5) liquid sampling port; (6) settler; (7) airlift; (8) gas sampling port for DMS using Tedlar bags.

圖 1、為氣舉式反應器系統

3.3 分解DMSO菌株篩選純化與分離

將經過馴化並具有 DMSO 分解能力的活性污泥(混合菌液)以連續稀釋法以無菌水稀釋至 10⁷ 倍，塗抹於事先準備好之含 DMSO 成份的 TA-1 固態培養基上，再置於 30°C 恆溫培養箱中培養數日。於培養期間，依生成之不同菌落形態、大小、顏色以及其他特徵，將菌落以接種環挑出，再連續地重複上述動作，將菌落塗抹於TA-1 固態培養基上，直到分離出純菌株。TA-1 培養基是 [Murakami-Nitta \[2003b\]](#) 最先使用的，將先前經過馴養並轉植在 TA-1 固態培養基上的菌株利用接種環勾取少量的菌落轉植至事先經過滅菌處理的 100 ml 培養液中，以進行前培養 24 hr 以活化菌株。接著再取植種比為 10% (v/v) 前培養菌液轉殖至裝有經過滅菌的潔淨培養液的棕色密閉瓶中，且加入 DMSO 溶液濃度為 500 mg/L 於其中，並另外做一組不加菌液之對照組。

完成以上步驟後將兩瓶棕色密閉瓶至於以 30°C，150 rpm 之恆溫震盪器中培養。每隔一段固定時間將密閉瓶由恆溫震盪器中取出並靜置一段時間以待瓶內氣 - 液平衡。再以氣密針抽取瓶頂空間氣體注入一配置火焰離子偵測器 (FID) 之氣相色層分析儀 (GC) 中，測量瓶頂空間之 DMSO 濃度。將兩密閉瓶中的 DMSO 濃度加以比較，若經過接菌的密閉瓶中的 DMSO 濃度明顯較低，即表示菌株具分解 DMSO 的能力。隨後將菌株樣本委託食品所菌種保育中心 (BCRC) 加以鑑定。

3.4 微生物族群結構分析—PCR/DGGE 菌種族群結構鑑定法

本計畫微生物族群結構的分析乃利用 PCR/DGGE 基因的方法，將特性 DNA 段予以分離鑑定。在作法上，乃利用原核細菌 rRNA 的保守性，在 5S、16S 及 23SrRNA 上尋找適當的保守位置作為 primer

來切斷具專一性 DNA 的位置，配合 PCR 的增幅作用，將這具菌種變異性的區段序列大幅增量，以便於後續 DGGE 的變性分離能夠較為明顯。然後，進行分離後基因段落的純化工作；亦即將分離後的 DNA 片段轉殖到所選定的大腸桿菌宿主，利用宿主質體上沒有轉殖成功會自我毀滅的功能，以及質體上具抵抗抗生素的基因，而在含抗生素的培養基上，讓雜菌無法生存，而達到純化的目的。純化後的 DNA 片段可外送定序，如此即可以知道環境中的微生物族群。可藉由 PCR 的增幅作用，將這變異度較高的區域加以增量，以便於 DGGE 實驗中區別開來。一開始，引子可使用其他學者的設計，也許不見得適於本計畫，所以能夠的話，最好能夠自行設計引子，重新再進行上述的實驗。目前已有 DMS 的克隆方法 [Horinouchi *et al.*, 1997; Horinouchi *et al.*, 1999] 及 DMSO 氧化路徑酵素的基因克隆方法 [Endoh *et al.*, 2003]。

(一)、實驗設備

本實驗所使用的重要儀器，包括聚合酶連鎖反應器（今日儀器 Primus 25 Advanced）、變性梯度凝膠電泳槽 (DCode™ Universal Mutation Detection System, Bio-Rad)。其他設備，如水平電泳槽 (Sub-Cell GT Agarose Gel Electrophoresis System, Bio-Rad)、照膠系統含軟體 (Kodak EDAS 290, Kodak) 及微量離心機 (Biofuge pico, Heraeus, Kendo) 及電源供應器 (Power PAC 300, Bio-Rad)。

(二)、DNA 抽取實驗方法

利用自行配製的 Solution I, II, and III, 萃取樣本中的核酸，其步驟如下：(1) 將已培養的菌種取 2 ml 至離心管中，在 10,000 rpm 下離心 8 分鐘後，去除上層液，加入 100 μ l 的 Ice-cold solution I 輕微上下搖晃均勻。(2) 接著加入 200 μ l 的 Freshly prepared solution II 輕微上下搖晃均勻。(3) 然後加入 150 μ l 的 Ice-cold solution III，輕微上下搖晃均勻，在 10,000 rpm 離心 5 分鐘，抽取上層液至新的 1.5 ml 的離心管。接著加入 1ml 酒精輕微上下搖晃均勻，再去離心 (10,000 rpm) 5 分鐘，去除上層液 (抽乾淨) 後靜置風乾 10 分鐘左右即可收至 -80°C 冰箱中保存。

為檢視萃取後 DNA 的濃度與純度，先將水樣以適當比例雙重蒸餾水稀釋，再利用紫外線光度計 (DR4000U, Hach, USA) 於波長 260 及 280nm 下量測其吸光值。在波長 260nm 下的吸光值代表 DNA 的濃度，而在波長 260 及 280nm 下吸光值的比值為 DNA 的純度；當值在 1.7-2.0 之間為可接受的範圍，依萃取方法有所不同，一般在 1.8 時表示所含的 DNA 純度較高。

(三)、引子 (Primer) 製作

引子為一段與 DNA 片段互補的序列，可將特定的目標 DNA 片段，經由 PCR 放大，而經 PCR 放大的 DNA 片段便可用於後續菌群鑑定的依據。而 primer 的設計是本研究的關鍵所在，目前國內的環工界大都經由文獻蒐尋，例如 Horinouchi *et al.* [1999] 即為一例。然而各不同目的且具專一性的引子是否適合本研究來使用則存疑，未來將自行發展 Primer。

(四)、聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction)

PCR 反應所需的混合試劑，包括 PCR master mix (Promega, USA)、25 units/ml Taq DNA Polymerase、200 μ M dNTP (dATP, dCTP, dGTP, and dTTP) 和 1.5 MgCl₂，以及引子各 0.2 μ M。利用聚合酶連鎖反應器 (今日儀器 Primus 25 Advanced) 操作在三種溫度下，經由不斷地循環而將模板 DNA 片段予以複製出來。其溫度條件可分為三種：階段一 (denaturing 1 cycle)，95 °C、4 min；階段二 (持續 denaturing, annealing, and extension 30-35 cycles)，95 °C、0.5 min → 51.8 °C、0.5 min → 72 °C、1 min；階段三 (持續 extension 1 cycle)，72 °C、10 min；等待，8°C、無限長。

配置反應液於 100 μ l 的離心管中 (含引子 I：2 μ l、引子 II：2 μ l、dNTP：2 μ l、Reaction buffer 10x：10 μ l、DMSO：10 μ l、25units/ml Taq DNA Polymerase：4 μ l、ddH₂O：70 μ l) 混合均勻後分別取 25 μ l

於新的離心管中，於編號第 2 以上的管中分別加入 1 μ l 的硫氧化菌 DNA，編號第 1 管為負對照組。混合均勻後以離心機離心 6000rpm、10 秒使之反應溶液集中管尖，將四根離心管置於 PCR 儀器中，啟動連鎖反應程式。

(五)、瓊脂凝膠電泳分析

瓊脂凝膠電泳 (agarose gel) 分析的目的在於初步確認 DNA 萃取的效果及產量。一般而言，DNA 產物片段愈小，所需的瓊脂凝膠濃度越大，如表 2-1 所示。而膠體濃度越大表示孔隙愈小，較長的 DNA 片段會被隔離在外，而讓較小的 DNA 片段得以通過。由於第一年度所設計的 Primer 將獲得約 1000 Kb 的 DNA 片段，因此將在 1% 的 Agarose 下進行。

3.5 氣、液相分析程序

3.5.1 液相 DMS 檢量線建置

將已知濃度之 DMS 水溶液注入 286 mL 之棕色氣密瓶中，並置入 30 $^{\circ}$ C 之恆溫震盪培養箱中，以轉速 150 rpm 下，震盪 30 分鐘，使氣密瓶中 DMS 完全均勻混合。將樣品與 0.5% 正丙醇 (1-Propanol：作為內標準物) 以 1：1(v/v) 混合，置入 2 mL 離心管中，以 10000 rpm 轉速離心 10 分鐘。再利用液針抽取離心管中 0.5 μ l 的上澄液，注入 GC/FID 中進行分析，讀取特定時間出現之波峰面積值。改變 DMS 樣品濃度，重複上述步驟。將測得之 DMS 波峰面積值與已知之 DMS 濃度作圖，經線性回歸後即為 DMS 在液相中之濃度檢量線。

3.5.2 氣相 DMS 檢量線建置

將已知濃度之 DMS 藥品注入 10L 乾淨氣體之採樣袋，之後使用吹風機適度於採樣袋外加熱並將 DMS 與空氣均勻混合。此時洗針五次後注入空針針測是否有其餘污染問題產生，測試完後即可由採樣袋中抽取 0.5mL 的樣品注入 GC/FID 中進行分析，讀取特定時間出現之波峰面積值。將測得之 DMS 波峰面積值與已知之 DMS 氣體濃度作圖，經線性回歸後即為 DMS 在氣相中之濃度檢量線。

3.5.3 DMSO 檢量線建置

參考 Murakami (2002) 的分析方法以進行 DMSO 的檢測，將懸浮液以 0.22 μ m 的薄膜進行過濾，接著以高效能液相層析儀 (HPLC, Acme 9000, YOUNG LIN INSTRUMENT, Korea) 進行檢測。層析用的管柱為 Hypersil ODS (5 μ L, 250 \times 4.6mm, England)，UV detector 則將波長設定成 DMSO 之最佳檢測波長 225nm。HPLC 之操作條件如下表。

3.5.4 DMSO₂ 檢量線建置

將懸浮液以 0.22 μ m 的薄膜進行過濾，接著以高效能液相層析儀 (HPLC, Acme 9000, YOUNG LIN INSTRUMENT, Korea) 進行檢測。層析用的管柱為 Hypersil ODS (5 μ L, 250 \times 4.6mm, YOUNGLIN INSTRUMENT)，UV detector 波長設定在 225nm。移動相為 0.5% 硫酸 (sulfuric acid)，需用折射率檢測器 (RI750F) 偵測。

3.5.5 液相硫酸根與分析

IC (Dionex ICS-900 離子層析儀) 原理為利用層析技術分析陰、陽離子成份。使用 IC 進行分析時，注入樣品為 1mL，注入前先使用乾淨的容器進行前處理離心與二次過濾的程序，避免管柱污染的問題。分析時間為 30 鐘。移動相為 9 mM 的碳酸氫鈉溶液 (純度為 99.9%，Merck 試藥級)，流洗液的水需要使用 18M Ω 以上的純水。檢量線建置 100mgL⁻¹ 的硫酸根濃度 (最大極限)，分析前樣品最好先稀釋再注入。

第四章 結果與討論

4.1 DMSO曝氣逸散背景實驗

為了測試 DMSO 是否因培養基沈積或反應器管壁吸附造成濃度下降或是因為曝氣而造成 DMSO 逸散至空氣中。因此，將經過滅菌的模擬廢水(750 mg DMSO/L)置入反應器中。在室溫下由電磁隔膜式空氣泵(Hiblow, Sun Mines, Taipei City, Taiwan)經由流量計控制流量，以氣流速率為 10 L/min 打入反應器中進行曝氣。接著逐時分別採取樣品量測 DMSO 濃度。操作條件 pH 為 7；溫度為 30 °C；初始 DMSO 濃度為 700mg/L。結果顯示經過 90 小時的背景測試和 DMSO 化合物特性測試結果並無逸散而 DMSO 為超親水的物質，更凸顯出 DMSO 化合物穩定的特性。

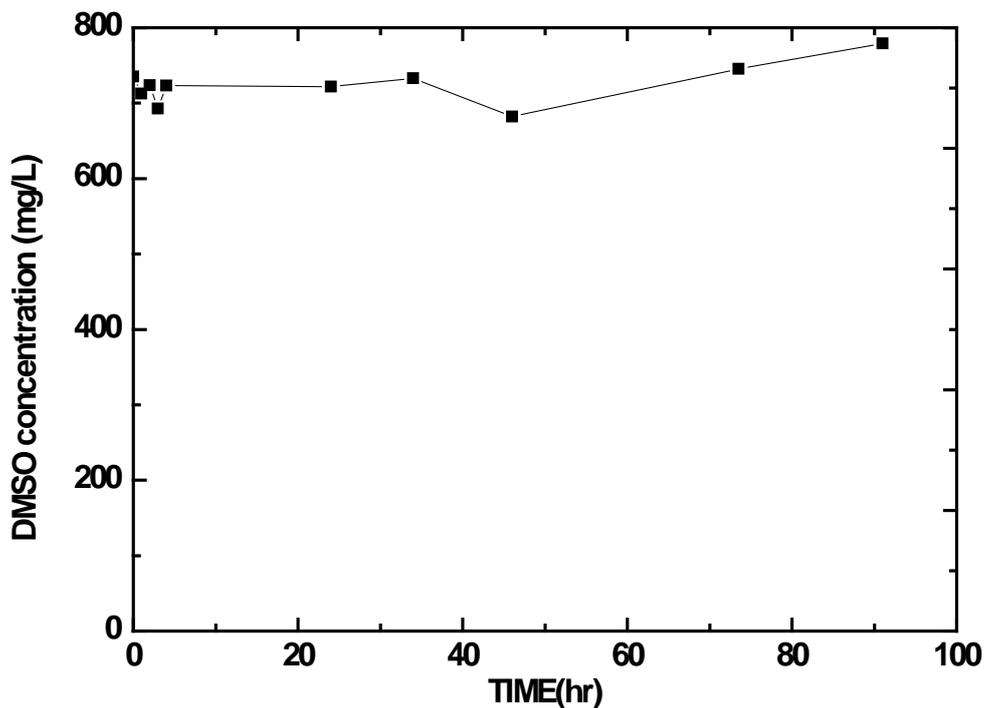


圖 1、DMSO 在氣舉式反應器中之背景實驗

4.2 馴養有無對添加碳源下DMSO降解之影響

將國內化工產業工廠中的廢水處理單元所取之污泥，在經過馴養後，與同一來源但未經馴養之活性污泥分別以有或沒有添加蔗糖作為額外碳的來源，分為 4 個組別做降解 DMSO 之比較。兩種不同的懸浮活性污泥分別以 6000 rpm 在 4°C 下離心 5 分鐘後收集沉澱物，再以不含 DMSO 且經過滅菌的模擬廢水 250 mL 將沉澱物重新懸浮，並重複此步驟 2 次將污泥中殘留的 DMSO 以及其它物質洗淨後作為接種的污泥來源。

以不同菌種分為 4 組個別降解 300 mL 的搖瓶實驗結果如圖 2 所示。

由圖中可明顯看出，初始 DMSO 濃度同為 200 mg/L DMSO 的降解速率，馴養過之 A 菌種降解速率遠快於 B 菌種，且是否添加蔗糖對其之影響並不明顯。反觀同一污泥來源卻未經馴養之 B 菌種，除降解速率緩慢許多，蔗糖之添加影響也甚鉅。探討其原因可能為，蔗糖相較於 DMSO 屬於較易分解使

用的碳來源，故活性污泥會先分解使用蔗糖才開始降解 DMSO，使 DMSO 降解初期有一段啟動期。而此時已可約略看出經過長期馴養之 A 菌種降解 DMSO 速率對於碳源添加與否影響不大。

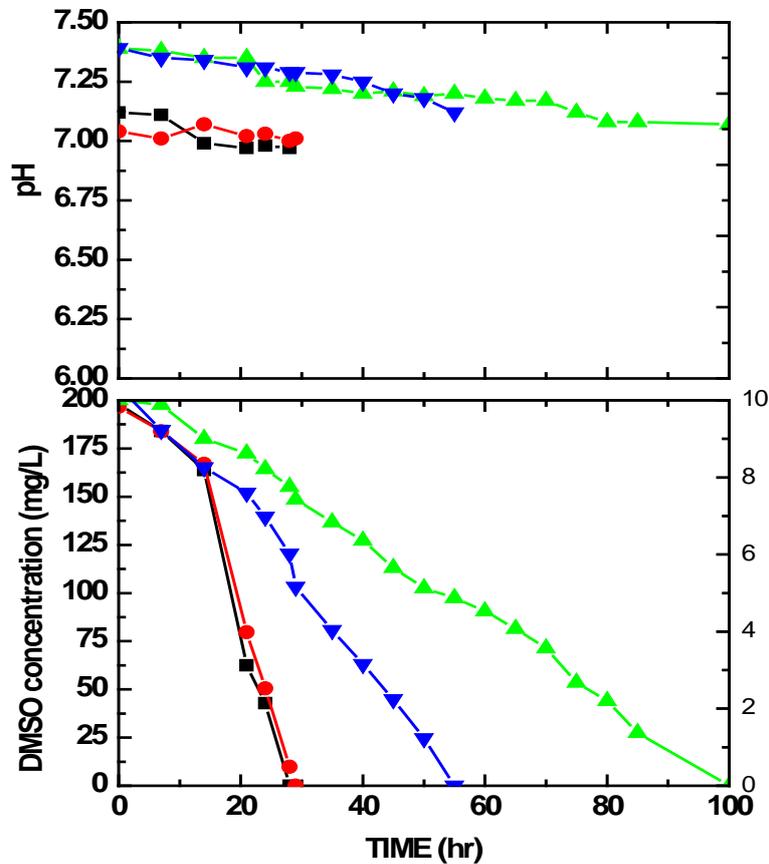


圖 2、Effect of acclimation and addition of sucrose on the degradation of DMSO in shake-flask culture. Conditions: Temp., 30°C; the rotational speed: 120 rpm; initial pH, 7.0. (■) aged sludge inoculum with 50 mg/L of sucrose; (●) aged sludge inoculum with no sucrose; (▲) fresh sludge inoculum with 50 mg/L of sucrose; and (▼) fresh sludge inoculum with no sucrose.

4.2 活性污泥於氣舉式反應器重覆批次降解DMSO試驗

當懸浮活性污泥培養於包含 200 mg/L DMSO 模擬廢水的三角錐形瓶時，DMSO 在 17 小時內被降解，且 DMSO 轉換為硫酸鹽離子並直接地累積在模擬廢水中。為了了解活性污泥經過長時間的操作後是否仍能穩定性的分解去除 DMSO，以作為是否可應用於實廠操作之判斷依據。本試驗於最適培養條件下進行重覆批次培養試驗，觀察其對菌體活性及 DMSO 分解速率之影響。

(一)懸浮活性污泥反應器重覆批次試驗

懸浮活性污泥在氣舉式反應器重覆批次降解 DMSO 的實驗結果如。由圖 3 可知，懸浮活性污泥在氣舉式反應器重覆批次降解 DMSO 實驗中，懸浮活性污泥最終可在 10 小時內將負荷量為 850 mg/L 的 DMSO 去除近 99%，相較於 Muratani (1999)所發表降解 600 mg/L DMSO 需 15 小時以上，以及 Yang and

Myint(2003)發表 600 mg/L DMSO 在 6.66 小時的水力停留時間達到 95% TOC 去除率為佳。

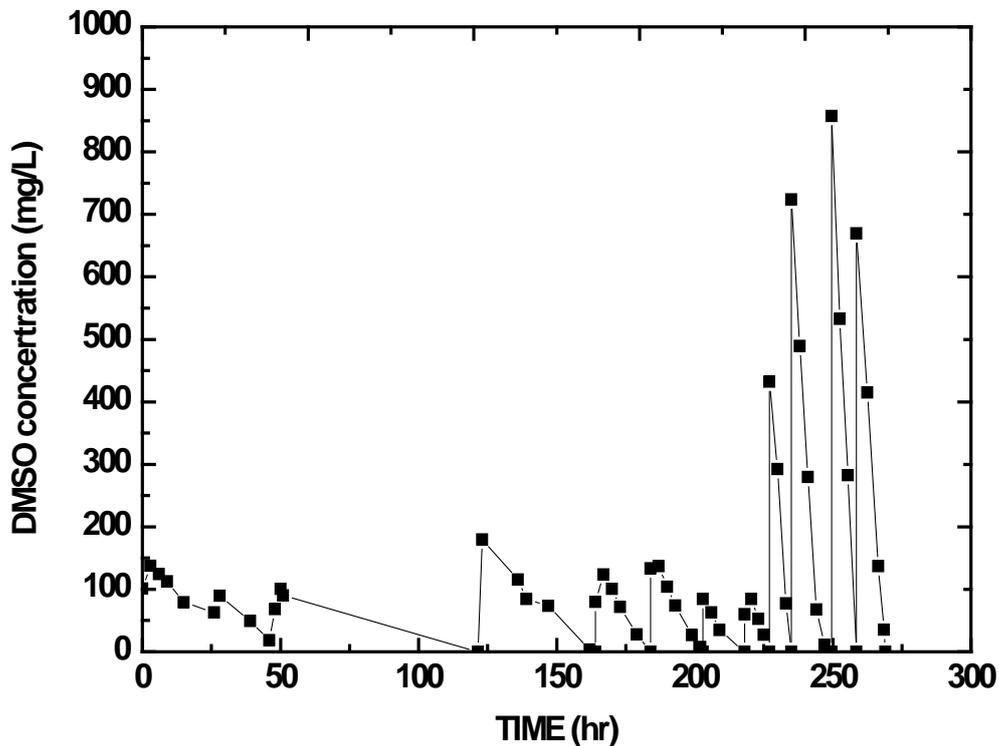


圖 3、DMSO biodegradation in air-lift bioreactor under repeated-batch mode.

(二) 固定化活性污泥反應器重覆批次試驗

取 250g 經過馴養的固定化活性污泥以不含 DMSO 且經過滅菌的模擬廢水將固定化顆粒沖洗乾淨，並重複此步驟 2 次將顆粒表面殘留的 DMSO 以及其它物質洗淨後作為接種的污泥來源。

將其填充到氣舉式反應器的模擬廢水之 DMSO 濃度由低濃度難降解的 100 mg/L 開始，再逐步增加到 200、400、800、1200 mg/L 並定時取樣分析液相 DMSO 濃度，瞭解 DMSO 去除效率，以得到固定化活性污泥對 DMSO 的最大耐受性及降解能力。試驗中並觀察固定化活性污泥是否可長期操作利用，以利往後進行連續反應的可行性參考。固定化活性污泥在氣舉式反應器重覆批次降解 DMSO 的實驗結果如下圖。由圖 4 可知，固定化活性污泥在氣舉式反應器重覆批次降解 DMSO 實驗中，固定化活性污泥最終可在 45 小時內將負荷量 1200 mg/L DMSO 降解完成，處理 800 mg/L DMSO 的負荷量也僅需 21 小時即完成。以倍數提高 DMSO 進料濃度並未影響固定化活性污泥的降解活性，在 1200 mg/L 的 DMSO 負荷量下活性污泥仍能不受影響穩定的降解 DMSO。由此可看出固定化活性污泥對於 DMSO 負荷量的增加是具有忍受及處理能力和系統穩定性。

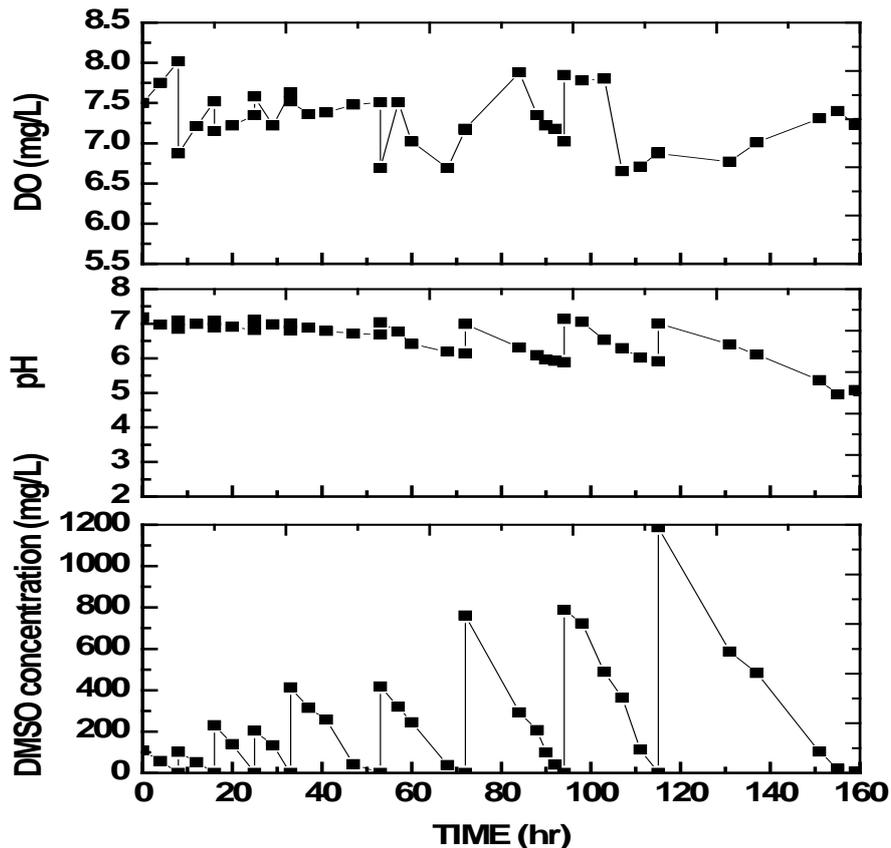


圖 4、Repeated batch on DMSO degradation using the immobilized cells of activated sludge.

4.3 LB增富有無對活性汙泥降解廢水中DMSO之影響 經 LB 培養基對活性汙泥降解 DMSO 穩定性

將經活化、前培養之懸浮活性汙泥，以 6000 rpm 在 4°C 下離心 5 分鐘後收集沉澱物，再以不含 DMSO 且滅菌過之模擬廢水，將沉澱物重新懸浮，並重複此步驟 2 次，將汙泥中殘留的 DMSO、LB 培養基以及其它物質洗淨後作為接種的汙泥來源。將活性汙泥植種至氣舉式反應器中進行活性汙泥降解 DMSO 試驗。於連續操作試驗前，皆先將懸浮之活性汙泥重新以 LB 培養基進行增富培養，以得到活性汙泥在以 LB 培養基增富培養之條件下，對於活性汙泥降解 DMSO 能力之影響。

4.3.1.1 不同碳源濃度對活性汙泥降解 DMSO 之影響

為了解模擬廢水中添加不同碳源濃度對於活性汙泥降解 DMSO 之影響，於模擬廢水中區分為蔗糖量(0、50、500、5000、10000 mg/L)進行活性汙泥降解 500 mg/L DMSO 試驗。在氣舉式反應器中，區分為 5 種不同蔗糖濃度(0、50、500、5000、10000 mg/L)之模擬廢水，在模擬廢水中添加 500 mg/L DMSO，並接種 300 mL 的懸浮活性汙泥，於氣舉式反應器中進行活性汙泥降解 DMSO，且定時取樣分析 DMSO 濃度的變化。以得到在不同蔗糖濃度對活性汙泥降解 DMSO 之影響，實驗結果如圖 5 所示。

由實驗結果發現，將馴養過的活性汙泥培養於蔗糖濃度為 0~500 mg/L 的模擬廢水中，經過 140 小時的降解，活性汙泥皆可將 500 mg/L DMSO 完全去除，且所產生的 DMS 濃度非常低。而以蔗糖濃度為 0、50、500 mg/L 之三種濃度相比，當活性汙泥培養於未添加蔗糖之模擬廢水中，其降解速度比起

培養於 50 mg/L 及 500 mg/L 快速。

然而，當活性污泥培養於高濃度蔗糖(蔗糖濃度 5000mg/L 及 10000 mg/L)之模擬廢水中，發現初始試驗時，活性污泥會優先利用蔗糖作為碳源來生長增加 Biomass，隨著菌體的生長，其 pH 值也會快速的下降，且同時也發現大量的 DMS 產生。雖然活性污泥利用高濃度蔗糖來生長 Biomass，但對於 DMSO 的降解速率卻未能隨著菌量的增加而使得降解速率加快，經過 285 小時的降解，DMSO 的去除率僅能達到 70%左右。由此可知，雖然增加蔗糖濃度能夠維持較高的菌量，但卻不能夠讓活性污泥提高降解速率，這可能是由於活性污泥利用蔗糖生長時產生一些其他的酵素而不能用來分解 DMSO，且高濃度蔗糖量亦會造成 DMS 的產生。

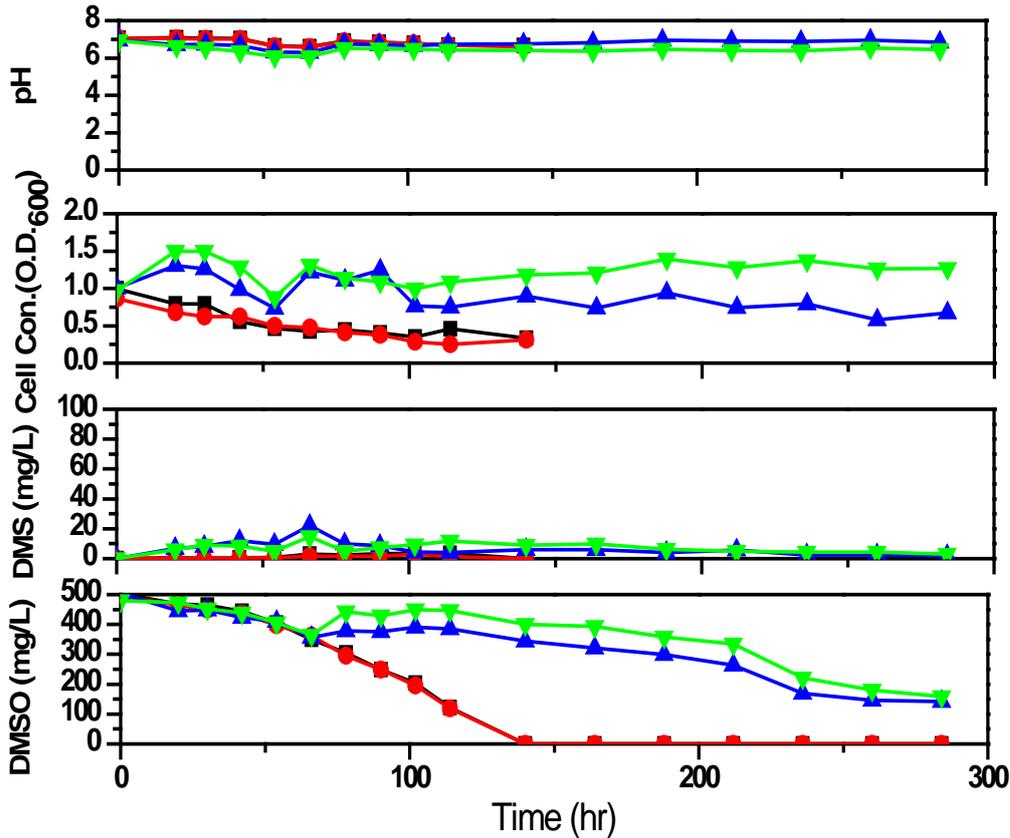


圖 5、為不同碳源濃度對 DMSO 降解之影響

Operation condition : Temp:25°C ; Initial pH:7.0 ; Air rate:3L/min

Initial Sucrose concentration : (■)0 mg/L ; (●) 50 mg/L ; (▲) 5000 mg/L ; (▼) 10000 mg/L

4.3.1.2 高濃度 DMSO 對活性污泥連續操作穩定性之影響

為了解以高濃度 DMSO 連續操作對於活性污泥生長的穩定性影響，於氣舉式反應器中以 500 mg/L DMSO 進行活性污泥降解 DMSO，並連續饋料進行試驗。在氣舉式反應器中，添加不含蔗糖的模擬廢水 3000 mL，並接種 300 mL 的懸浮活性污泥，於氣舉式反應器中添加 500 mg/L DMSO 進行活性污泥降解 DMSO。待每一批次 DMSO 降解完畢後，皆先將活性污泥重新以 LB 培養基進行增富培養，再重新植種至反應器中進行連續操作，並於定時取樣分析 DMSO 濃度的變化，以得到活性污泥以 LB 培養基增富培養下，高濃度 DMSO 對於活性污泥連續操作之穩定性，實驗結果如圖 6 所示。

由實驗結果發現，當活性污泥以 LB 培養基增富培養之條件，於氣舉式反應器中進行活性污泥降解 DMSO，在初始試驗時，活性污泥的降解速率較緩慢，而重複批次操作時，將活性污泥先以 LB 培養基重新增富培養，在處理 500 mg/L DMSO 可於 120 小時內完全降解，並且在連續操作 5 個循環後仍然保持降解 DMSO 之能力。由此可知，相對於在未以 LB 培養基增富培養之條件下，在重複操作處理 500 mg/L DMSO 三個循環後，活性污泥逐漸失去降解 DMSO 之能力，指出懸浮活性污泥在以 LB 增富培養之條件下，在處理高濃度 DMSO 可以維持長時間的操作，且系統具有良好的穩定性。

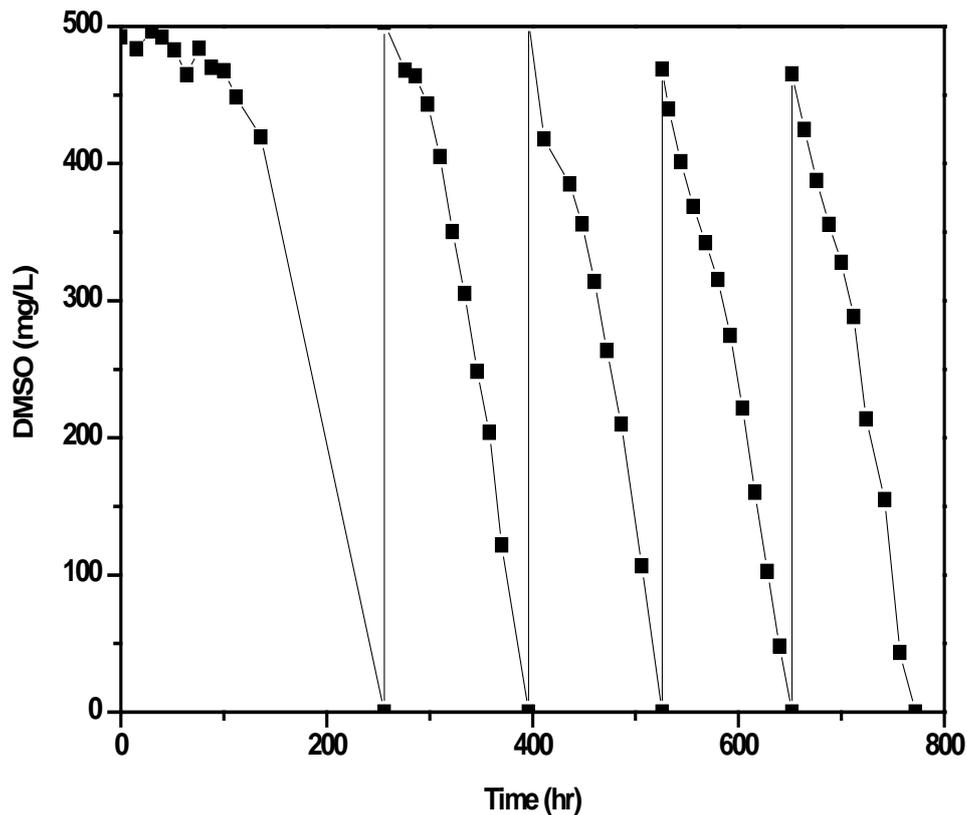


圖 6、在氣舉式生物反應器下重複批次降解 DMSO
Operation condition : Temp:25°C ; Initial pH:7.0 ; Air rate: 3L/min

4.3.1 未經LB培養基增富為活性污泥降解DMSO穩定性

4.3.2.1 不同DMSO濃度對活性污泥穩定性之影響

為比較不同 DMSO 濃度重複饋料對於活性污泥生長的穩定性影響，分別以 50 及 500 mg/L DMSO 於氣舉式反應器中進行活性污泥降解 DMSO，並連續饋料進行試驗。將經活化、前培養之懸浮活性污泥離心後，接種 300 mL 的懸浮活性污泥置入氣舉式反應器中，在不含 Sucrose 的模擬廢水中，並分別添加 50 及 500 mg/L DMSO，進行活性污泥降解 DMSO 連續饋料試驗，以得到不同 DMSO 濃度連續操作下，對於活性污泥生長的穩定性影響，實驗結果如圖 7、圖 8 所示。

由實驗結果圖 7 發現，於氣舉式反應器中進行活性污泥降解 50 mg/L DMSO，在初始批次操作時，活性污泥可於 6 小時內將 50 mg/L DMSO 降解完成，並且在連續操作 6 個循環後仍然保持其降解速率。

這可能是由於初始培養階段活性污泥，必須先誘導菌體產生試驗時，活性污泥的降解速率較緩慢，需要 40 小時才能完全降解 DMSO，然而重複單氧氧化酵素來分解 DMSO，而重複操作階段，活性污泥已能快速且穩定地產生單氧氧化酵素來分解 DMSO。

由實驗結果圖 8 發現，於氣舉式反應器中進行活性污泥降解 500 mg/L DMSO，試驗在前兩批次時，活性污泥的降解速率可以於 140-155 小時將 DMSO 完全降解，然而在第三次重複操作時，一開始活性污泥去除 DMSO 速率仍然保有較快的降解速率，但約經過 100 小時後，其降解速率慢慢的趨近平緩。這可能是由於活性污泥於高濃度 DMSO 之條件下，連續操作降解 DMSO 使得活性污泥逐漸受到 DMSO 毒性之影響，進而影響其降解之能力。

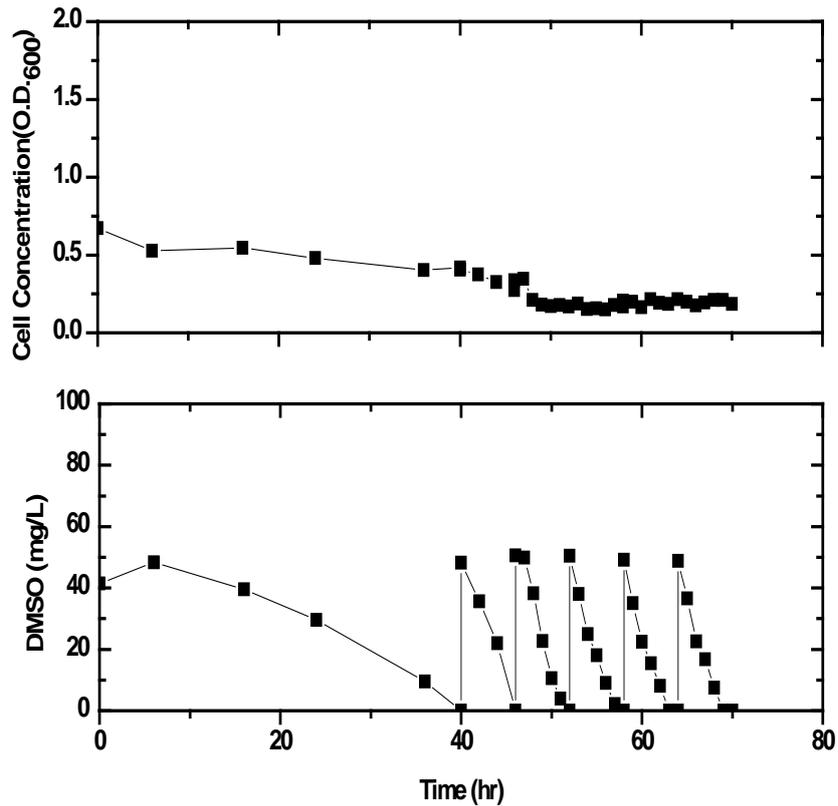


圖 7、低濃度 DMSO 對活性污泥連續操作穩定性之影響

Operation condition : Temp : 25°C ; Air rate : 3 L/min ; initial pH : 7.0

Initial DMSO concentration : 50 mg/L

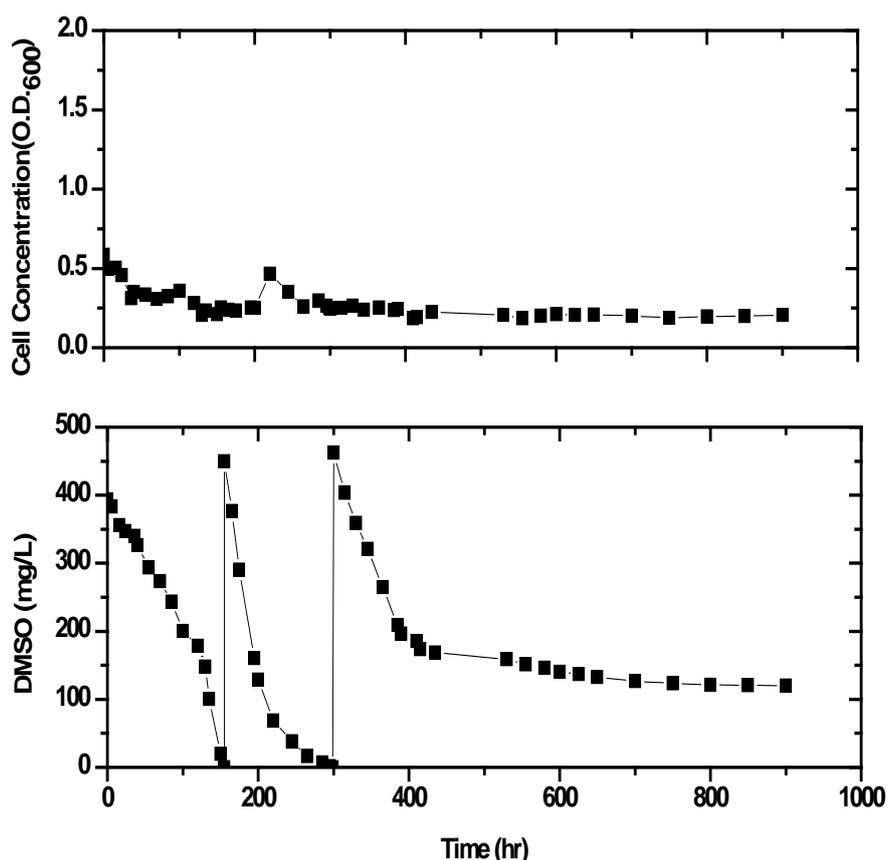


圖 8、高濃度 DMSO 對活性污泥連續操作穩定性之影響

Operation condition : Temp : 25°C ; Air rate : 3 L/min ; initial pH : 7.0

Initial DMSO concentration : 500 mg/L

4.3.2.2 高濃度DMSO對活性污泥之毒性試驗

為了解 DMSO 對於活性污泥生長的毒性影響，將試驗分為三階段進行，初始階段以 50mg/L DMSO 於氣舉式反應器中進行活性污泥降解 DMSO，並連續操作至活性污泥降解 DMSO 之能力穩定。第二階段於反應器中將 DMSO 濃度提高至 500 mg/L 進行試驗，以了解高濃度 DMSO 對活性污泥生長之毒性。在氣舉式反應器中，添加不含蔗糖的模擬廢水 3000 mL 以及接種 300 mL 的懸浮活性污泥，初始添加 50 mg/L DMSO 進行活性污泥降解 DMSO 試驗，待 DMSO 降解完畢後，將活性污泥沉澱後，取出上澄液並添加新鮮之模擬廢水及 DMSO，以連續操作至活性污泥降解能力達到穩定。第二階段提高氣舉式反應器中 DMSO 濃度至 500 mg/L，試驗高濃度 DMSO 對於活性污泥降解能力之影響，而第三階段為將反應器內的活性污泥離心且重新植種至反應器中，並於反應器中添加新鮮培養基及 50 mg/L DMSO，於固定時間間隔取樣分析 DMSO 濃度的變化，以得到高濃度 DMSO 對活性污泥生長之毒性，實驗結果如圖 9 所示。

由實驗結果發現，試驗的初始階段將活性污泥培養於氣舉式反應器中進行活性污泥降解 50 mg/L DMSO，可以於 10 小時內完全降解並連續操作 4 個循環後仍能穩定降解 DMSO。而第二階段中，於反應中提高 DMSO 之濃度至 500 mg/L，活性污泥在短時間內受到高濃度 DMSO 之影響，對活性污泥產生毒性，而使活性污泥失去降解 DMSO 之能力。為了了解活性污泥是受到高濃度 DMSO 而產生抑制現象或是因受到高濃度 DMSO 之影響而產生毒性，因此於第三階段將活性污泥離心並重新植種至反應器中，並添加新鮮培養基及 50 mg/L DMSO 進行試驗，在長時間的監測 DMSO 濃度，發現 DMSO 沒

有明顯的降解，因此確認菌株是受到高濃度 DMSO 之影響，產生毒性進而失去降解 DMSO 之能力。

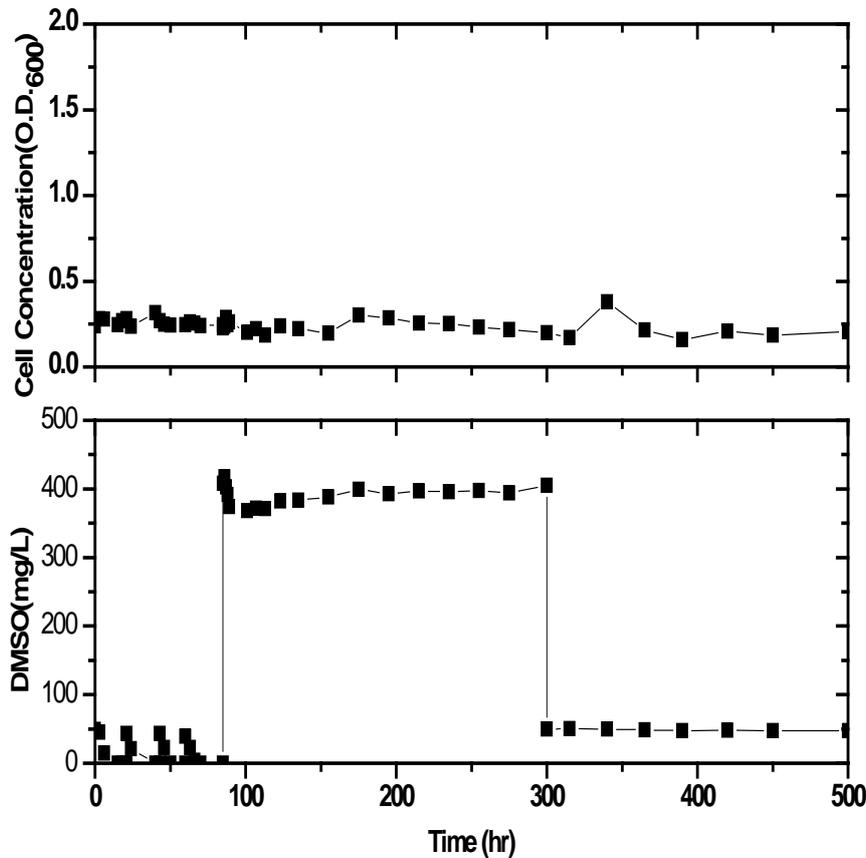


圖 9、DMSO 對於活性污泥生長之毒性影響

Operation condition : Temp : 25°C ; Air rate : 3 L/min

DMSO concentration : 初始階段(50 mg/L) ; 第二階段 500 mg/L ; 第三階段 50 mg/L

4.3 氣舉式活性污泥進行連續稀釋法菌相攝影與微生物鑑定

實驗設計為由氣舉式反應器中的活性污泥進行取樣，由於氣舉式反應器進行重複批次中之活性污泥經過馴養測試，在連續批次有具有良好效果，且其中無臭味產生。因此取樣分為動態、靜態上層液與底泥三種型態。如圖 10 所示，將每種狀態的污泥進行連續稀釋後，取 100 μ L 的污泥於 TA-1 固態培養基上，利用 L 型玻棒均勻抹盤，如此重複二次。將此二次抹盤結果進行所有菌株聯集後，依據菌株表面形態的特徵將其篩選出，將其個別使用四分劃碟法至 TA-1 固態培養基中（添加有 500mgL⁻¹ DMSO）。圖 4 為不同狀態下取樣抹盤後的菌相，此次實驗使用連續稀釋法將不同狀態下的污泥先進行稀釋後抹盤，依可見程度為 100 稀釋的動態污泥、16 倍稀釋的靜態上層液和 320 倍稀釋的底泥，彼此間每毫升的原始菌量為 3.37 $\times 10^5$ 、1.14 $\times 10^5$ 和 3.4 $\times 10^6$ 。不同狀態下污泥菌相依據表面型態不同之微生物鑑定資料彙整於附件資料一。附件一中依據不同靜態與動態狀況，分別建立微生物之親緣圖，並且由菌株不同生長狀況，表面顏色、邊緣、突起狀況與生長狀況記錄其特徵，結果顯示菌相因經過適當馴養，因此菌相略為單純。

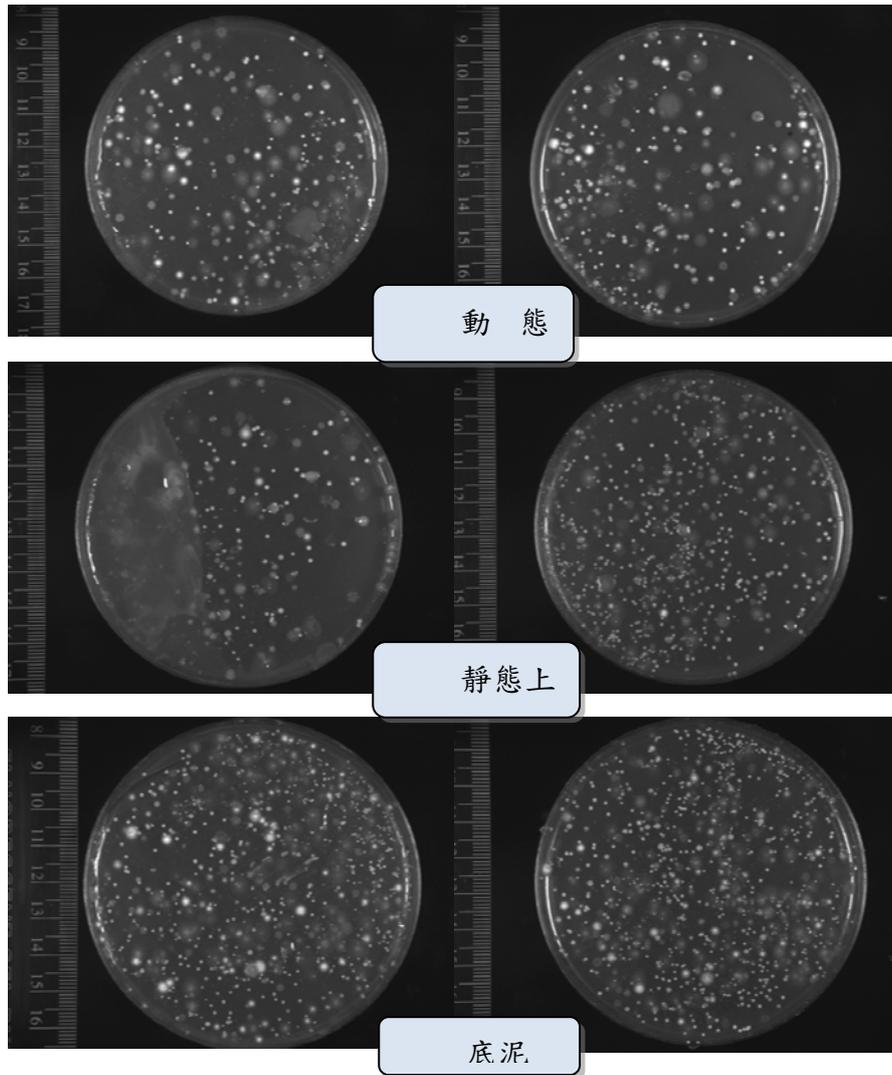


圖 10、為不同狀態汙泥進行連續稀釋後之菌相

4.4 使用分子生物技術進行氣舉式反應器活性汙泥之菌群分析

分子生物實驗使用本實驗室先前自行設計之 TCJ primers 和 11F-1512R 細菌專用之引子將 DNA 片段放大進行 PCR-Cloning，在宿主細胞轉殖成功的菌株再個別挑出使用限制酶酵素消化確認特定插入的基因段，若判定轉質作用成功將全片段插入載體中之菌株，以四分劃碟室溫郵寄至明欣生物有限公司 (MISSION BIOTECH, Taipei) 進行定序。

由表 7 為利用分子生物技術鑑定不同狀態下汙泥下之菌群分析，可知不同狀態下菌群變化，靜態上澄液與底泥中的菌群並無明顯，有 *Serratia marcescens*、*Enterobacter aerogenes*、*Bacillus subtilis*、*Pseudomonas fluorescens* 與 *Pseudomonas sp.*等菌株。其中，*Enterobacter aerogenes* 菌株為革蘭氏陰性菌無氧化酵素能力，為一種醫院內常見的病原體，常感染於皮膚或是在組織中被發現。*Bacillus subtilis* 菌株為一枯草桿菌、嗜熱且具有耐熱脂肪酶與蛋白酶，今日食品、化妝品與發酵工程中。*Pseudomonas fluorescens* 為假單胞桿菌目 (Pseudomonadales) 為螢光族，具有降解酚類污染物能力與脫氮能力，在土壤中防治病蟲害或廢水處理中進行脫氮作用都有良好的表現。*Pseudomonas sp.*在環境中常見，為圓形桿狀且為革蘭氏陽性細菌，能以苯酚類污染物為唯一碳源進行降解。*Serratia marcescens* 黏質沙雷氏菌，能在動植物中成長並移動，且能產生紅色色素 (red pigment)，此紅色色素為靈菌紅素 (prodigiosin)

目前為新一代抗癌藥物。此一色素及其類似物除具有抗生素、免疫抑制劑的生理功效，近年來研究使用 *Serratia marcescens* 進行臨床實驗大量生產靈菌紅素。

而動態汙泥菌群有 *Serratia liquefaciens*、*Brevibacillus brevis*、*Ochrobactrum sp.*、*Pseudomonas fluorescens*、*Pseudomonas sp.*和 *Pseudomonas aeruginosa* 與等菌株。*Serratia liquefaciens* 菌株為沙雷氏菌之一，具有脂解酶，目前學者利用於餐飲業廚餘廢水去脂應用性。*Brevibacillus reuszeri* 為 *Brevibacillus* 菌屬，顯微鏡下觀察為短芽孢桿，依據傳統分析方式鑑定 *B.brevis* 應該被區分為 9 個菌種，菌種間之 16s rRNA 序列相似度在 93.2% 以上，G+C content 為 42.8~57.4 mol%，生長範圍在 30~50℃。常見於禽畜糞好氣式堆肥處理場中，具有高溫分解有機物的能力。*Ochrobactrum sp.*為一脫硝菌株，通常用於在廢水處理程序中，可分解苯酚類污染物。革蘭氏陰性的桿菌。因此，氣舉式反應器中活性汙泥雖以苯酚類降解之菌群為主，但然可有效的降解 DMSO 汙染物且無臭味問題。

表 7、為利用分子生物技術鑑定不同狀態下汙泥下之菌群分析

Sludge type		Separated colonies	organism	Similarity(%)
static	bottom	46	<i>Serratia marcescens</i>	99
			<i>Enterobacter aerogenes</i>	99
			<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99
			<i>Bacillus subtilis</i>	99
	supernatant	18	<i>Serratia marcescens</i>	99
			<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99
			<i>Pseudomonas sp.</i>	99
			<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99
Dynamic sludge	37	<i>Serratia liquefaciens</i>	99	
		<i>Brevibacillus brevis</i>	100	
		<i>Ochrobactrum sp.</i>	99	
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99	
		<i>Pseudomonas sp.</i>	99	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	98	
Total		101		

4.5 不同培養基對於篩菌之影響

本次實驗使用學者論文中所提及的培養基進行實驗，選擇兩種不同型態培養基進行馴養之後進行降解實驗。兩者培養基成分個別為 TA-1 和 SFMM 培養基，差別分別在於鹽類含量和碳源含量的不同。實驗結果發現經由 TA-1 培養基馴養後之汙泥具有降解 DMSO 能力且不會產生 DMS 氣體，相較下 SFMM 培養基菌株生長狀況較好且能有效降解 DMSO 外，卻有產生 DMS 氣體(data not show)。結果顯示出培養基中將 DMSO 作為碳源、氮源或是硫源代謝一關鍵要素，對於篩選出的菌株皆具有單氧氧化酵素，雖能有效無臭降解 DMSO 但對於篩選出菌株較不專一。

4.5.1 使用分子生物技術進行不同培養基篩選菌群分析

本次實驗利用兩者不同培養基做實驗，兩者經過馴養後皆能有效降解 DMSO，但對於篩選菌株卻無足夠論文證實其代謝路徑。研究利用兩種培養基，除了兩者鹽類和碳源的不同，更在菌種分析上證

實兩者的差異。先前實驗顯示使用 TA-1 做馴養並進行降解中無臭味發生，且主要菌群以 *Pseudomonas* sp. 和苯酚類菌群為主。另外使用 SFMM 培養基進行實驗並篩選菌株時，主要以 *Acinetobacter* sp. 為主之菌群。實驗結果顯示兩株菌皆具有單氧化酶的能力，因單氧化酶為胞外酶，因此皆需要適度誘導。雖然，SFMM 也適用於篩選 DMSO 降解菌株但此成分主要為篩選海水中的菌種。

4.6 分解DMSO之酶素特性

4.6.1 酶素分解 DMSO 的負荷量

為了解單氧化酶對於分解 DMSO 的負荷量，收集氣舉式反應器中降解 DMSO 之上澄液，並分別添加 DMSO(50、100、300、500 mg/L)，於固定時間間隔分別採取樣品量測 DMSO 濃度的變化，以得到酶素分解 DMSO 的負荷能力，實驗結果如圖 11 所示。

由實驗結果指出，將酶素用於分解不同濃度之 DMSO，在分解低濃度 DMSO (50-100 mg/L)時，在 85 小時內能夠完全分解 DMSO，去除率達到 100%，但當提高 DMSO 濃度到 300 mg/L 以上，則發現 DMSO 的濃度沒有明顯地變化。由此可知，當 DMSO 濃度超過 300 mg/L 時，其濃度將超過酶素所能分解的負荷量。

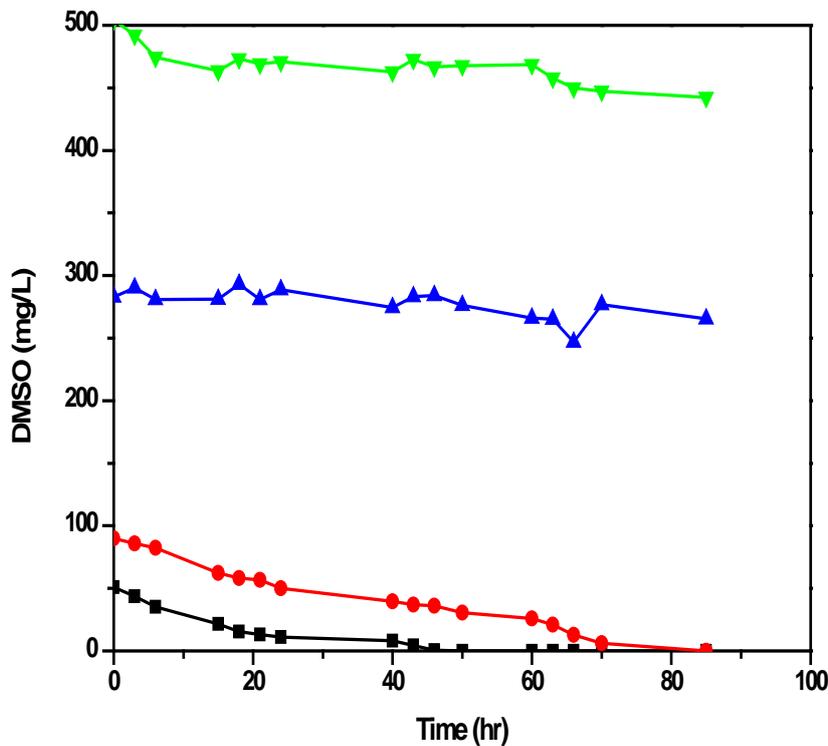


圖 11、酶素分解不同 DMSO 濃度之負荷能力

Operation condition : Temp:25°C ; The rotational speed:150 rpm

Initial DMSO concentration : (■)50 mg/L ; (●)100 mg/L ; (▲)300 mg/L ; (▼)500 mg/L 。

4.6.2 不同溫度對酵素活性之影響

為比較酵素在不同的環境溫度下對 DMSO 的反應活性，收集反應器降解 DMSO 之上澄液，並以 0.45 μm 濾膜過濾。於上澄液中添加 100 mg/L DMSO，且分別放置於 25、30、40、50、80、100 $^{\circ}\text{C}$ 環境中，以 150 rpm 往覆震盪培養箱中培養，接著於固定時間間隔分別採取樣品量測 DMSO 濃度的變化，以得到不同溫度對酵素分解 DMSO 的活性，實驗結果如圖 12 所示。

由實驗結果發現，經過 36 小時的分解，酵素溫度於 25~100 $^{\circ}\text{C}$ 之間，對 DMSO 的分解效率分別為 100%、100%、62%、7%、5%、3%。當溫度於 25-30 $^{\circ}\text{C}$ 時，反應時間只需要 6 個小時即可將 100 mg/L DMSO 完全分解。由此可知，當溫度逐漸上升時，酵素活性也隨之降低，在 25-30 $^{\circ}\text{C}$ 時酵素的活性最佳，而超過 50 $^{\circ}\text{C}$ 就會導致酵素失活。

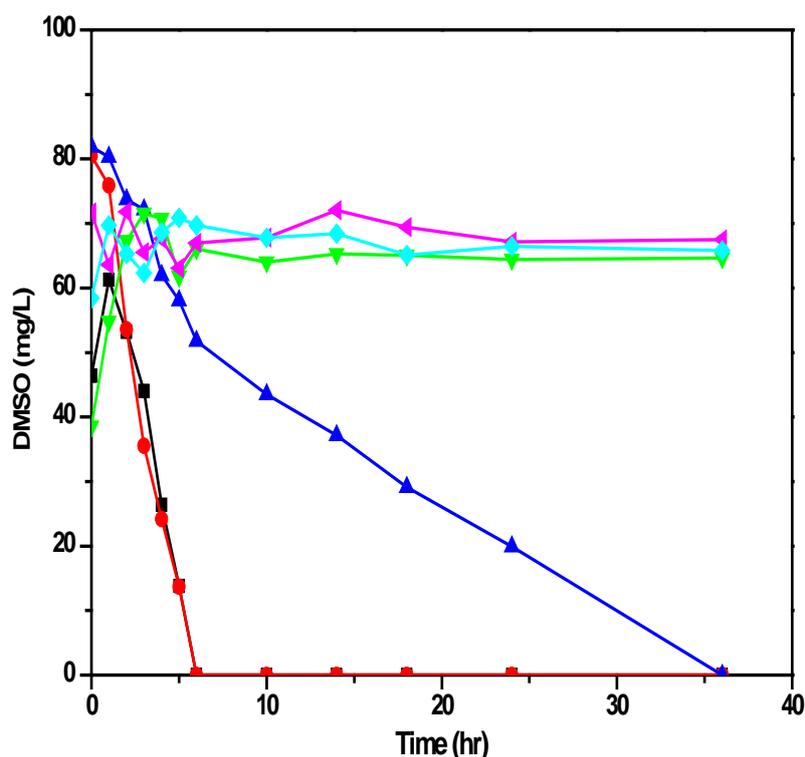


圖 12、不同溫度環境下對酵素分解 DMSO 的活性
Operation condition : Temp:25 $^{\circ}\text{C}$; The rotational speed:150 rpm
Initial DMSO concentration : 100 mg/L

酵素初始加熱溫度:(■)25 $^{\circ}\text{C}$; (●)30 $^{\circ}\text{C}$; (▲)40 $^{\circ}\text{C}$; (▼)50 $^{\circ}\text{C}$; (◄)80 $^{\circ}\text{C}$; (◆)100 $^{\circ}\text{C}$

4.6.3 儲存於不同溫度對酵素活性之探討

為比較酵素儲存在不同的環境溫度下對 DMSO 的反應活性，收集反應器降解 DMSO 之上澄液，並以 0.45 μm 濾膜過濾。將上澄液分別儲存於 4°C 及 25°C 環境中，並於儲存 7、21 天後將上澄液取出。於上澄液中添加 100 mg/L DMSO，以 150rpm 往覆震盪培養箱中培養，接著於固定時間間隔分別採樣品量測 DMSO 濃度的變化，以得到將酵素儲存於不同溫度下，對酵素分解 DMSO 的活性，並計算出其酵素分解 DMSO 之分解速率，實驗結果如圖 13 與表 8 所示。

表 8、酵素儲存於不同溫度下對酵素活性之影響

儲存溫度	保存時間(天)	Slope
25°C(新鮮酵素)	0	-15.032
4°C	7	-1.7367
	21	-0.2624
25°C	7	-0.1528
	21	0.0988

由實驗結果指出，將剛從反應器中取出的新鮮酵素用來分解 100 mg/L DMSO，酵素可以於 6 小時的反應時間內將 DMSO 完全分解。將此酵素分別儲存於 4°C 及 25°C 的環境中，7 天後將酵素分別用來分解 DMSO，在儲存於 4°C 的酵素仍然保有部分分解 DMSO 之活性，但與新鮮酵素相較下，其分解速率較緩慢；但若是儲存於 25°C 的酵素，則會失去酵素之活性。進一步將酵素繼續儲存於 4°C 中，當保存時間超過 21 天後，也會發現酵素失去分解之活性。

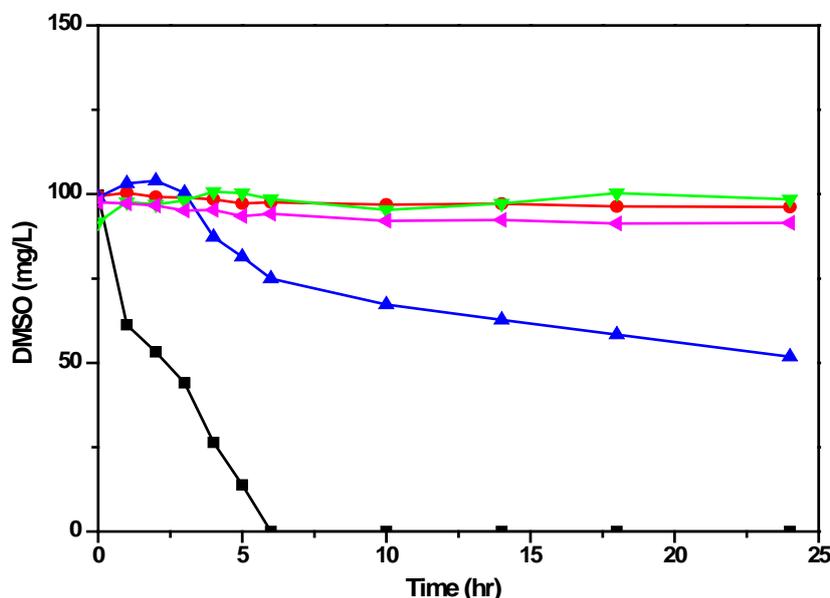


圖 13、儲存於不同溫度環境下對酵素分解 DMSO 的活性

Operation condition : Temp:25°C ; The rotational speed:150 rpm ; Initial DMSO concentration : 100 mg/L

(■)新鮮酵素 ; (●)儲存於 25°C-7 Day ; (▲)儲存於 4°C-7 Day ;
(▼)儲存於 25°C-21 Day ; (◄)儲存於 4°C-21 Day

4.6.4 連續批次操作酵素之穩定性探討

為了解酵素活性於反應器中連續操作之穩定性，收集反應器降解 DMSO 之上澄液，以 0.45 μm 濾膜過濾。將上澄液 3000 mL 置入氣舉式反應器中，並添加 50 mg/L DMSO，進行酵素分解 DMSO，待 DMSO 降解完畢後，重複批次饋料，並定時取樣分析 DMSO 濃度的變化，以得到酵素活性於反應器中連續操作之穩定性，實驗結果如圖 23 所示。由實驗結果發現，將酵素置入氣舉式反應器中進行分解 50 mg/L DMSO，在重複批次饋料之條件下，酵素仍然保持分解之活性，每一批次的分解時間可於 6 小時內將 50 mg/L 的 DMSO 完全分解。然而將酵素靜置於反應器中，經過一段時間後，則會發現酵素的反應活性降低。

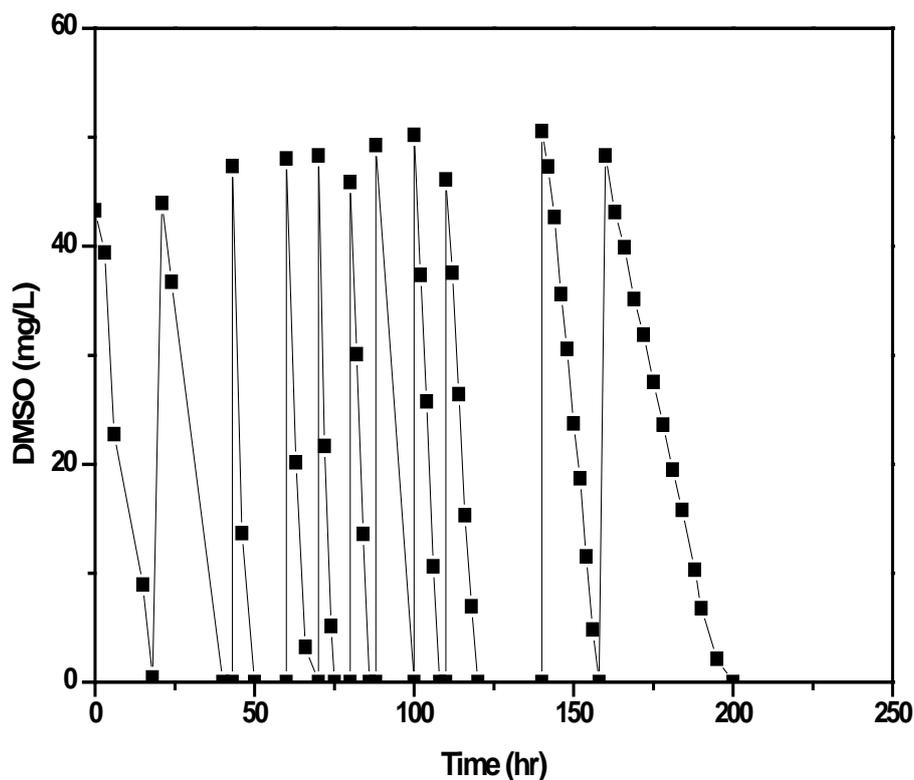


圖 23、酵素於氣舉式反應器中連續操作分解 DMSO
Operation condition : Temp:25°C ; Air rate : 3 L/min
Initial DMSO concentration : 50 mg/L

第五章 結論與建議

1. 欲分解之目標物 DMSO 降解後會生成酸性物質(sulfate)而導致 pH 值下降，影響懸浮污泥的活性而導致去除效果不佳。因此，於連續處理 DMSO 的情況下，需適當地維持其 pH 值，使 pH 值不至於降到會影響污泥活性的程度。
2. 透過固定化技術除了降低 pH 對污泥直接性的影響，固定化顆粒也方便收集控管且易維持內部菌體的穩定性，具有往後應用到實廠操作的價值。活性污泥顆粒經過長期馴養後具有不錯的 DMSO 分解能力以及 DMSO 濃度變化忍受能力，系統具有穩定性。此對於應用於往後生物反應器連續操作之可能性具有相當高的發展潛力。具有發展以生物反應器處理 DMSO 的研究價值。
3. DMSO 最佳篩選培養基應要慎選，由無機鹽組成並以主要 DMSO 為碳源或硫源為主，再篩選前必須經過階段式馴養再進一步進行篩選為佳。
4. 欲分解之目標物 DMSO 降解後會生成酸性物質(sulfate)而導致 pH 值下降，影響懸浮污泥的活性而導致去除效果不佳。因此，於連續處理 DMSO 的情況下，需適當地維持其 pH 值，使 pH 值不至於降到會影響污泥活性的程度。
5. DMSO 最佳篩選培養基應要慎選，由無機鹽組成並以主要 DMSO 為碳源、氮源或硫源為主，在篩選前必須經過階段式馴養再進一步進行篩選為佳。
6. 最佳培養基應了解 DMSO 在組成中為碳氮硫源，並適度的添加物做為誘導切勿造成毒性問題。
7. 下一步進行搖瓶實驗時可進行菌種組合進行降解，往後培養出有效菌株做為第三年計畫中發酵槽實驗和模廠接菌源。

參考文獻

- 陳秀仁、張懷有、田錫義、二甲基亞砷的開發前景. 化工進展 2000; 53-55.
- 陳明倫, 染整廢水再利用處理之研究, 元智大學化學工程學系碩士論文, 1995。
- 盛為友, 二甲基亞砷專案的技術經濟論證, 中國石化上海石油化工 2000, see <http://www.spc.com.cn/>。
- 羅正錦, 以全細胞及固定化 *Rhizopus oryzae* 進行油酸酯化動力探討, 中華大學環境資源與能源科技研究所碩士論文, 2007。
- 張寶額, 工業研究院環安中心執行環保署空保處 91 年度專案計畫, 2002。
- 駱呈欣, 內循環氣舉式生物反應器中之局部氣相流力性質與應用於生物降解有機廢氣之行為模式, 國立清華大學化學工程學系博士論文, 2004。
- Adinarayana K, Srinivasulu B, Bapi Raju KVVSN, Ellaiah P. Continuous neomycin production by immobilized cells of *Streptomyces marinensis* NUV-5 in an airlift bioreactor. *Proc Biochem* 2004;39:1407-1414.
- Alef K, Kleiner D. Rapid and sensitive determination of microbial activity in soils and in soil aggregates by dimethylsulphoxide reduction. *Biol Fertil Soils* 1989;8:349-355.
- Andreae MO., Dimethylsulphoxide in marine and freshwaters. *Limnol Oceanogr* 1972;25:1054-1063.
- Bentley MD, Douglass IB, Lacadie JA, Whittier DR. The photolysis of dimethylsulphide in the air. *J Air Pollut Control Assoc* 1972;22:359-363.
- Bilous PT, Weiner JH. Dimethyl sulfoxide reductase activity by anaerobically grown *Escherichia coli* HB101. *J Bacteriol* 1985;162(3):1151-1155.
- Borodina E, Kelly DP, Rainey FA, Ward-Rainey NL, Wood AP. Dimethylsulfone as a growth substrate for novel methylotrophic species of *Hyphomicrobium* and *Arthrobacter*. *Arch Microbiol* 2000;173:425-437.
- Charlson RJ, Lovelock JE, Andreae MO, Warren SG. Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate. *Nature* 1987;326:655-61.
- Chemical Daily Co. Ltd. Chemical Products. 2001;13901:498-499 (in Japanese).
- Cohen Y. Biofiltration the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresour Technol* 2001;77:257-274.
- Daily Chemical Industry, ChemNET. See <http://www.chemnet.com.tw/> (accessed on 21st February 2002).
- De Bont JAM, Dijken JP, Harder W. Dimethyl sulfoxide and dimethyl sulfide as a carbon, sulfur and energy source for growth of *Hyphomicrobium S.* *J Gen Microbiol* 1981;127:315-323.
- De Marco PD, Murrell JC, Bordalo AA, Moradas-Ferreira P. Isolation and characterization of two new methanesulfonic acid-degrading bacterial isolates from a Portuguese soil sample. *Arch Microbiol* 2000;173:146-153.
- Glindemann D, Novak J, Witherspoon J. Dimethyl sulfoxide (DMSO) waste residues and municipal waste water odor by dimethyl sulfide (DMS): the North-East WPCP plant of Philadelphia. *Environ Sci Technol* 2006;40:202-207.
- Gonzalez G, Herrera G, Garcia MT, Pena M. Biodegradation of phenolic industrial wastewater in a fluidized bed bioreactor with immobilized cells of *Pseudomonas putida*. *Bioresour Technol* 2001;80: 137-142.
- Griebler C. Dimethylsulphoxide (DMSO) reduction: a new approach to determine microbial activity in

freshwater sediments. *J Microbiol Methods* 1997;29:31-40.

Hinks JW, Cawte H, Sanders DA, Hudson A, Dockree CN. Prediction of flow rates and stability in large scale airlift reactors. *Wat Sci Technol* 1996;34(5-6): 51-57.

Hirano K, Koito T, Toyoda A. Practical application of UV/H₂O₂ treatment technique to DMSO wastewater. *ISSM 98 Proceedings* 1998;208.

Jonkers HM, van der Maarel MJEC, van Gernerden H, Hansen TA. Dimethylsulfoxide reduction by marine sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 1996;136:283-287.

Kelly DP, Murrell. Metabolism of methanesulfonic acid. In: Lidstrom ME, Tabita FR (eds) *Microbial growth on C1 compounds*. Kluwer, Dordrecht 1996;33-40.

Kino K, Murakami-Nitta T, Oishi M, Ishiguro S, Kirimura K. Isolation of dimethyl sulfone-degrading microorganisms and application to odorless degradation of dimethyl sulfoxide. *J Biosci Bioeng* 2004;97(1):82-84.

Koito T, Tekawa M, Toyoda A. A novel treatment technique for DMSO wastewater. *IEEE Trans Semicond Manuf* 1998;11(1):3-8.

Leenen EJTM, Dos Santos VAP, Grolle KCF, Tramper J, Wijffels RH. Characteristics of and selection criteria for support materials for cell immobilization in wastewater treatment. *Wat Res* 1996;30: 2985-2996.

Leonardos G, Kendall D, Barnard N. Odor threshold determinations of 53 odorant chemicals. *J Air Pollut Control Assoc* 1969;19(2):91-95.

Lin YH, Hwang SCJ, Gong JT, Wu JY. Using Redox Potential to Detect Microbial Activities during Clavulanic Acid Biosynthesis in *Streptomyces clavuligerus*. *Biotechnol Lett* 2005;27(22): 1791-1795.

Loh KC, Liu J. External loop inversed fluidized bed airlift bioreactor (EIFBAB) for treating high strength phenolic wastewater. *Chem Eng Sci* 2001;56:6171-6176.

Lomans BP, van der Drift C, Pol A, Op den Camp HJM. Microbial cycling of volatile organic sulfur compounds. *CMLS, Cell Mol Life Sci* 2002;59:575-588.

Malin G. The role of DMSP and DMS in the global sulfur cycle and climate regulation. In: Kiene RP, Visscher PT, Keller MD, Kirst GO (eds) *Biological and environmental chemistry of DMSP and related sulfonium compounds*. Plenum, New York 1996;177-189

McEwan AG, Ferguson SJ, Jackson JB. Purification and properties of dimethyl sulphoxide reductase from *Rhodobacter capsulatus*. *Biochem J* 1991;274:305-307.

Mihalopoulos N, Kerminen VM, Kanakidou M, Berresheim H, Sciare J. Formation of particulate sulfur species (sulfate and methanesulfonate) during summer over the Eastern Mediterranean: A modeling . *Atmos Environ* 2007;41:6860-6871.

Mordocco A, Kuek C, Jenkins R. Continuous degradation of phenol at low concentration using immobilized *Pseudomonas putida*. *Enz Microb Technol* 1999;25: 530-536.

Murakami-Nitta T, Kurimura H, Kirimura K, Kino K, Usami S. Continuous degradation of dimethyl sulfoxide to sulfate ion by *Hyphomicrobium denitrificans* WU-K217. *J Biosci Bioeng* 2002;94(1):52-56.

Murakami-Nitta T, Kirimura K, Kino K. Degradation of dimethyl sulfoxide by the immobilized cells of *Hyphomicrobium denitrificans* WU-K217. *Biochem Eng J* 2003;15:199-204.

Murakami-Nitta T, Kirimura K, Kino K. Oxidative degradation of dimethyl sulfoxide by *Cryptococcus*

humicolus WU-2, a newly isolated yeast. *J Biosci Bioeng* 2003;95(1):109-111.

Muratani T. Biological treatment of wastewater containing DMSO. *Sharp Giho* 1999;73:20-25 (in Japanese).

Oremland RS, Smith NA. Organic sulfur compounds in the environment. *Adv Microb Ecol* 1988;10:285-383.

Oren A, Truper HG. Anaerobic growth of halophilic archaeobacteria by reduction of dimethylsulfoxide and trimethylamine N-oxide. *FEMS Microbiol Lett* 1990;70:33-36.

Park SJ, Yoon TI, Bae JH, Seo HJ, Park HJ. Biological treatment of wastewater containing dimethyl sulphoxide from the semi-conductor industry. *Process Biochem* 2001;36:579-589.

Quan X, Shi H, Zhang Y, Wang J, Qian Y. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol and phenol in an airlift inner-loop bioreactor immobilized with *Achromobacter* sp. *Sep Purif Technol* 2004;34: 97-103.

Rittmann BE, McCarty PL. Environmental biotechnology: principles and application. McGraw-Hill, New York, 2001.

Scaduto Jr. RC. Oxidation of DMSO and methanesulfinic acid by the hydroxyl radical. *Free Radic Biol Med* 1995;18(2):271-277.

Shimizu K, Takada S, Takahashi T, Kawase Y. Phenomenological simulation model for gas hold-ups and volumetric mass transfer coefficients in external-loop airlift reactors. *Chem Eng J* 2001;84: 599-603.

Sikula I, Jurašcik M, Markoš J. Modeling of fermentation in an internal loop airlift bioreactor. *Chem Eng Sci* 2007;62:5216-5221.

Sklorz M, Binert J. Determination of microbial activity in activated sewage by dimethylsulphoxide reduction. *Environ Sci Pollut Res* 1994;1:140-145.

Suylen GMH, Kuenen JG. Chemostat enrichment and isolation of *Hyphomicrobium* EG. *Antonie van Leeuwenhoek* 1986;52(4):281-293.

US EPA, The causes and control of activated sludge bulking and foaming. US EPA, Ohio, 1987.

Weiner JH, Rothery RA, Sambasivarao D, Trieber CA. Molecular analysis of dimethylsulfoxide reductase: a complex iron-sulphur molybdoenzyme of *Escherichia coli*. *Biochim Biophys Acta* 1992;1102(1):1-18

Wen J, Chen Y, Chen D, Jia X. (2005) Removal of ethyl acetate in air streams using a gas-liquid-solid three-phase flow airlift loop bioreactor. *Biochem Eng J* 24: 135-139.

Wu JJ, Muruganandham M, Shen SH. Degradation of DMSO by ozone-based advanced oxidation processes. *J Hazard Mater* 2007;149:218-225.

Yang PY, Myint TT. Integrating entrapped mixed microbial cell (EMMC) technology for treatment of wastewater containing dimethyl sulfoxide (DMSO) for reuse in semiconductor industries. *Clean Technol Environ Policy* 2003;6(1): 43-50.

Zinder SH, Brock TD. Dimethyl sulphoxide reduction by microorganisms. *J Gen Microbiol* 1978;105:342-355.

Znad H, Bálaš V, Markoš J, Kawase Y. Modeling and simulation of airlift bioreactors *Biochem Eng J* 2004;21: 73-81.

Znad H, Kasahara N, Kawase Y. Biological decomposition of herbicides EPTC by activated sludge in a slurry bioreactor. *Process Biochem* 2006;41: 1124-1128.

Zhang Y, Han L, Wang J, Yu J, Shi H, Qian Y. An internal airlift loop bioreactor with *Burkholderia pickettii* immobilized onto ceramic honeycomb support for degradation of quinoline. *Biochem Eng J* 2002;11:149-157.

[Zhang](#) Y, Rittmann BE, Wang J, Sheng Y, Yu J, Shi H, Qian Y. High-carbohydrate wastewater treatment by IAL-CHS with immobilized *Candida tropicalis*. *Process Biochem* 2005;40:857-863.

行政院國家科學委員會補助國內專家學者出席國際學術會議報告

100 年 5 月 3 日

報告人姓名	黃思蓁	系所 職稱	土木工程學系教授
時間 會議 地點	April 1-3, 2011 Bali Island, Indonesia	本會核定 補助字號	NSC 97-2221-E-216-004-MY3
會議 名稱	(中文) (none) (英文) 2011 International Conference on Environment Science and Engineering (ICESE 2011)		
發表 論文 題目	(中文) (none) (英文) Addition of <i>Rhodococcus fascians</i> AC6 to prevent inhibition of the toluene degradation from ethyl acetate in biofiltration of VOCs-contaminated air stream		
<p>報告內容應包括下列各項：</p> <p>一、參加會議經過</p> <p> 本次會議例行性由中國成都的 APCBEES (Asia-Pacific Chemical, Biological & Environmental Engineering Society)及 IEEE 所贊助召開，今年由科威特 GEO 環境顧問公司的 Saji Baby 博士，以及澳洲昆士蘭的 Richard Haynes 擔任主席及 Proceedings 的主編。四月一日為報到日，第二天早上由各地請來的著名學者發表演說，台灣來的有台大農化系的王明光教授擔任 Keynote Speaker。到達此地的中午都是跟王明光教授伉儷一同用餐。</p> <p> 而由第二天的下午到第三天的下午是各領域學門的個別報告。該會議此次分為七個子題 (session)，本人被分配在第七個子題。雖然第七個子題是以微生物為主題，但是仍然有摻雜其他領域的內容。</p> <p> 第三天聽完各學者的簡報後，立即趕搭華航班機返國。</p> <p>二、與會心得</p> <p> 本次與會的人士很多來自台灣，這可能與台灣放春假有關；另外，這會議的品質不錯，又可以到旅遊景點來參加。與實驗室研究相關的文章有 p.68: Bio-fuel source from combination feed of sewage sludge and rice waste.目前我們使用藻渣，木屑，咖啡豆，牛糞等進行生質燃料研究。p.175: Exploring opportunities for sustainability in the Malaysian palm oil industry.，目前我們實驗室曾以 oleic acid 和 soybean oil 進行生質柴油的研究，也已投稿三篇期刊論文，一篇已獲得刊登。</p> <p>三、考察參觀活動(無是項活動者省略) (無)</p> <p>四、建議</p> <p> 本會議的研究主題較不具專一性，可是卻具備 IEEE 授權，可以取得學校的補助。建議未來能夠以研究主題相符合的研討會作為補助原則，配合國科會的經費，則效益會更加顯著。</p>			

五、攜回資料名稱及內容

(1) Proceedings of 2011 international conference on environmental science and engineering, April 1-3, 2011, Bali Island, Indonesia, Editor: Saji Baby and Yang Dan.

(2) One CD for above-mentioned proceedings.

六、其他 (photos)

(1) 報到現場



(2) 報到地點 Kuta 街上印度教神社



(3) 居住的旅館



國科會補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2011/10/20

國科會補助計畫	計畫名稱: 以氣舉式生物反應器處理光電業含二甲基亞(DMSO)廢水之可行性評估
	計畫主持人: 黃思尊
	計畫編號: 97-2221-E-216-004-MY3 學門領域: 環境工程
無研發成果推廣資料	

97 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：黃思蓁		計畫編號：97-2221-E-216-004-MY3				計畫名稱：以氣舉式生物反應器處理光電業含二甲基亞(DMSO)廢水之可行性評估	
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數(含實際已達成數)	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	2	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	3	0	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力 (本國籍)	碩士生	2	0	100%	人次	
		博士生	1	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		
國外	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力 (外國籍)	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		

<p>其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>本研究經學門召集人 張木彬 教授推薦，具有推廣價值於《工程科技推展電子刊》及《工程科技通訊》。並將收錄於《工程科技推展電子刊》並將刊登於 100 年 6 月出刊之第 112 期《工程科技通訊》中。</p>
--	---

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

1. 日前無有效辦法能將菌株誘導出單氧化酵素分析而得，此列入往後計畫修正。

2. 純菌降解光電產業廢水含二甲基亞砷(DMSO)實驗中得知對於 DMSO 影響性大於活性污泥分解酵素，其共同效益和代謝路徑針對實場操作中可提供相關經驗，使得硫化物降解更能無臭降解。

3. 因純菌降解效率和對於往後實場操作之簡易度和成本效益，實驗方向針對 96 年度國科會計畫支持的計劃中，所取得的有效活性污泥，於馴養後得無臭無味代謝硫化物，進行往後實務操作。

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文：已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利：已獲得 申請中 無

技轉：已技轉 洽談中 無

其他：(以 100 字為限)

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

□ 8；有效解決各科學園區使用 DMSO 所造成的惡臭及民眾抱怨的問題；幫助國內兩兆雙星產業，擺脫環保困擾，促進國內經濟發展。

□ 8；幫助國內化工廠，繼續生產 DMSO 提供國內兩兆雙星產業，賺取因國內成為全世界 LCD 面板和半導體最大生產中心，所帶來的營收增長。

□ 8；產學合作，學術界確實作好上游紮根之任務，針對所學經驗能投入廢氣生物處理之市場，如電機產業、石油加工、合成纖維、農藥和農肥和有機合成等。